Experimenteller Beitrag zur Interferenz von Influenzaviren

INAUGURAL-DISSERTATION
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an der
Medizinischen Fakultät der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
WALTRUN SINZ
aus Berlin

1965

Dekan: Prof. Dr. A. Loeschke
Referent: Prof. Dr. G. Henneberg
Korreferent: Prof. Dr. B. Schmidt

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der Freien Universität Berlin
Promoviert am: 21. Januar 1965

Inhaltsverzeichnis

Einführung 165

Besprechung der Literatur über die Interferenz zwischen Influenzaviren 165

Material und Methoden 166

Virusstämme
Inaktivierung des Virus
Vermehrung von Virus im bebrüteten Hühnerei
Reinigung der Virussuspensionen . . .
Bestimmung des Hämagglutinationstiters
„Entembryonieren" von Hühnereiern . .

Ergebnisse 167

Verhalten der Virustämme Asia und PR 8 in Kontrollversuchen
Interferenzversuche zwischen den Virusttämmen Asia und PR 8

Diskussion der Ergebnisse 188

Zusammenfassung 192

Literaturverzeichnis 15

Herrn Prof. Dr. G. Henneberg erlaube ich mir, für die Überlassung des Themas und die Anregung zu dieser Arbeit verbindlichst zu danken. Dank schulde ich auch Herrn Dr. Köhler, der mir die Anleitung bei der praktischen Durchführung der Versuche gab,und Herrn Dr. Drescher für die photometrischen Versuchsauswertungen. Den med. techn. Assistentinnen, Frau Wagner und Frau Orthmann, danke ich für ihre freundliche Hilfe.

UNIVERSITEITSBIBLIOTHEEK - LEIDEN -

Aus dem Robert Koch-Institut, Berlin
(Direktor: Prof. Dr. med. Georg Henneberg)

Experimenteller Beitrag zur Interferenz von Influenzaviren[1]

Waltrun Sinz

Mit 19 Abbildungen im Text

Eingegangen am 22. Januar 1965

Das wissenschaftliche Interesse an dem seit McKinney (1929) für pflanzliche Viren und seit Hoskins (1935) für tierische Viren bekannten Phänomen der Interferenz hat stark zugenommen und praktische Bedeutung erlangt in gewisser Weise auch in Zusammenhang mit den Bemühungen um die Bekämpfung der Poliomyelitis durch Schutzimpfungen (Hennessen, 1956-1958; o. Vf., 1959 (a), (b); Dick, Dane und Chir, 1958). Auf Grund zahlreicher Beobachtungen ist bekannt, daß die einzelnen Virustypen bei der Poliomyelitis mit Stämmen der anderen Enteroviren die Erscheinung der Interferenz zeigen. Werden beispielsweise Polio-Viren der Typen 1 und 2 gleichzeitig verabreicht, so können sie sich gegenseitig in ihrer Entwicklung beeinflussen (Koprowski, 1955 (a), (b); Koprowski u.a. 1956 (a), (b). Gemeinsame Gabe von Viren aller 3 Typen (Hale u.a. 1959; Sabin 1957, Verlinde u.a. 1958) führt zur Interferenz (Dalldorf und Weigand, 1958) in dem Sinne, daß Typ 2 meist stärker interferierende Eigenschaften entwickelt (Keller und Vivell, 1959; Sabin, 1957; Verlinde u.a. 1958) als es für Typ 3 gilt (Sabin, 1956).

Die praktische Wichtigkeit dieses biologischen Phänomens bei der Verwendung von Impfstoffen aus abgeschwächten, vermehrungsfähigen Krankheitserregern und die bei den Impfungen auftretenden Störungen gaben zu Versuchen Anlaß, einen Beitrag zur Aufklärung der Interferenz unter Viren zu leisten. Da die Influenzaviren wegen ihrer leichten Nachweisbarkeit und der Möglichkeit, sie in ihren einzelnen Stämmen zu differenzieren, als für die Experimente besonders geeignet erschienen, wurden dieselben als Versuchsmodelle benutzt.

Besprechung der Literatur über die Interferenz zwischen Influenzaviren

(siehe Zbl. Bakt. I. Ref. pt. **199**, 15, 1965).

[1] Inaugural-Dissertation zur Erlangung der medizinischen Doktorwürde an der Medizinischen Fakultät der Freien Universität Berlin 1964.

Experimenteller Teil

Material und Methoden

Virusstämme

Für die Versuche standen folgende Influenzavirusstämme aus der Sammlung des Robert Koch-Institutes zur Verfügung:

A/PR 8
A/2/Sing/1/57

Da die Viren längere Zeit in gefriergetrocknetem Zustand im Kältetresor bei –70° C aufgehoben worden waren, wurden unmittelbar vor Versuchsbeginn einige Allantoispassagen durchgeführt, und zwar: PR 8 1 Passage in der Verdünnung 10^{-6} und Asia je 1 Passage in den Verdünnungen 10^{-3} und 10^{-4}. Als Verdünnungsmedium diente Tyrodelösung.

Inaktivierung des Virus

2fach gereinigtes und in Tyrode suspendiertes Virus wurde mit Formalin inaktiviert. Zu 200 ml Virussuspension wurden 0,05 ml Formalin (Verdünnung 1 : 4000) gegeben. Dieses Gemisch wurde 3 Tage lang bei Kühlschranktemperatur gehalten. Nach dieser Zeit wurde das Material in den Verdünnungen 10° und 10^{-1} auf Hühnereier verimpft, um den sicheren Infektiositätsverlust festzustellen.

Vermehrung von Virus im bebrüteten Hühnerei

Hühnereier wurden 10–11 Tage vorbebrütet, anschließend durchleuchtet. Nach Kennzeichnung der Lage des Embryos wurde die Injektionsstelle festgelegt. Zur Desinfektion der äußeren Schale diente Sepsotinktur. Unter Durchleuchtungskontrolle wurden die einzelnen Virusverdünnungen in einer Menge von 0,2 ml je Infektionsdosis in die Allantoishöhle injiziert. Nach Verschluß der Injektionsöffnung mit Paraffin wurden die Eier weitere 48 Std. bei 37° C bebrütet und während dieser Zeit mehrmals durchleuchtet; die abgestorbenen Embryonen wurden ausgesondert. Nach Abschluß der Bebrütung wurden die Eier 12–15 Std. bei 4° C im Kühlschrank gehalten, um beim Eröffnen der Allantoishöhle Blutungen zu vermeiden. Die so gewonnenen Allantoisflüssigkeiten wurden 10 Min. bei 3000 Umdrehungen zentrifugiert. Dadurch sollten gröbere Partikel entfernt werden. Das Material wurde entweder in Ampullen abgefüllt und bis zur Verwendung im Kältetresor bei –70° C aufbewahrt oder aber, wenn es unmittelbar verwendet werden sollte, sofort gereinigt.

Reinigung der Virussuspensionen

Die Reinigung erfolgte mit Hilfe von Hammelerythrozyten durch Adsorption und anschließende Elution. Am Tage der Entnahme wurde das Hammelblut 3mal in physiologischer Kochsalzlösung gewaschen. Die Erythrocyten wurden 5%ig der virushaltigen Allantoisflüssigkeit zugesetzt. Die Adsorption erfolgte bei 4° C während 1/2 Std. Danach wurde die Suspension bei 2000–3000 Umdrehungen zentrifugiert, der Überstand vorsichtig abpipettiert, verworfen und durch die gleiche Menge gepufferter, auf 37° C erwärmter Kochsalzlösung ersetzt. Nach einer Elutionszeit von 30 Min. bei 37° C und erneutem Zentrifugieren enthielt der Überstand das gereinigte Virus in gepufferter Kochsalzlösung. In der eben beschriebenen Weise wurde das Virus ein zweites Mal gereinigt, nun aber in Tyrodelösung aufgenommen. Nach Zugabe von 100 E Penicillin und 50 γ Streptomycin je ml sowie Bestimmung des Hämagglutinationstiters und Anlage von Sterilitätskontrollen wurde das gereinigte Virus in kleine Erlenmeyerkolben abgefüllt und kurzfristig bis zum Verwendungstage in der Kühltruhe bei –20° C eingefroren. Die Kolben waren mit Gummistopfen und darüber gezogenen Aluminiumfolien verschlossen.

Bestimmung des Hämagglutinationstiters

Von jeder Virusart wurde der Hämagglutinationstiter bestimmt. Die dazu verwendeten Hühnererythrocyten wurden am Tage ihrer Entnahme 3mal in physiologischer Kochsalzlösung gewaschen. Dann wurde eine 0,5%ige Erythrocytensuspension hergestellt. Bei einer Aufbewahrungstemperatur von 4° C konnte dieses Material etwa 3 Tage verwendet werden. Die Hämagglutinationsansätze standen 1 Std. bei Zimmertemperatur, dann wurde der Titer abgelesen. Die angegebenen Titer beziehen sich stets auf das Röhrchen, das noch eine deutlich positive (++++) Hämagglutination erkennen läßt. Die HA-Titer werden als der reziproke Wert der Virusendverdünnung, d.h. Verdünnung einschließlich Blutzusatz, angegeben.

Weiterhin wurde die Hämagglutininkonzentration in den Proben mittels einer photometrischen Methode (Drescher, Hennessy, Davenport, 1962) bestimmt.

Bei Interferenzversuchen mit verschiedenen Virusstämmen wurde die Konzentration der Stämme in den Proben mittels einer photometrischen Methode zur Analytik von Virusmischungen (Drescher, Davenport, Hennessy, 1962) ermittelt.

„Entembryonieren" von Hühnereiern

(Bernkopf, 1949)

14–15 Tage vorbebrütete Hühnereier wurden durchleuchtet, die Lage der Luftkammer wurde markiert und die Schale am stumpfen Pol mit Spiritus desinfiziert. 1/2 cm oberhalb der Markierung der Luftkammer wurde die Schale mit einer Schere umschnitten. In den Winkel zwischen überstehender Kalkschale und uneröffneter Schalenhaut wurde mit einer Pipette verflüssigtes Paraffin gegeben, das sich zu einem Ring ausbreitete. Dieser verhinderte ein Abgleiten der Chorioallantoismembran in das Eiinnere. Nach Erstarren des Paraffins wurden die Schalenhaut und die darunterliegende Chorioallantoismembran mit einer Pinzette eröffnet. Unter leichtem Kippen und Drehen des Eies lief die Allantoisflüssigkeit ab; Embryo und Dottersack wurden vorsichtig aus dem Ei entfernt, ihre Verbindung zur Chorioallantoismembran wurde mit einer Schere durchtrennt. Das „entembryonierte" Ei wurde 3mal mit physiologischer Kochsalzlösung ausgiebig gewaschen. Im Verlauf der Versuche hatte die verwendete Kochsalzlösung eine Temperatur von 23° C, 37° C und zuletzt von 4° C. Letztere erwies sich als besonders geeignet, da bei gleich gutem Waschеffekt unnötige Blutungen vermieden wurden. Zum Trocknen wurde das Ei mit der Öffnung nach unten auf eine sterile Petrischale gesetzt. Danach wurde jedes Ei mit 10 ml der virushaltigen Tyrodelösung beschickt. Über die Eiöffnung wurde doppeltes, in heißem Paraffin getränktes Linsenpapier gespannt. Nach Numerierung wurden die Eier in einen Rotator (Abb. 1) im Neigungswinkel von 10° C eingespannt und 12mal pro Std. gedreht. Die Bebrütungstemperatur lag bei 37° C.

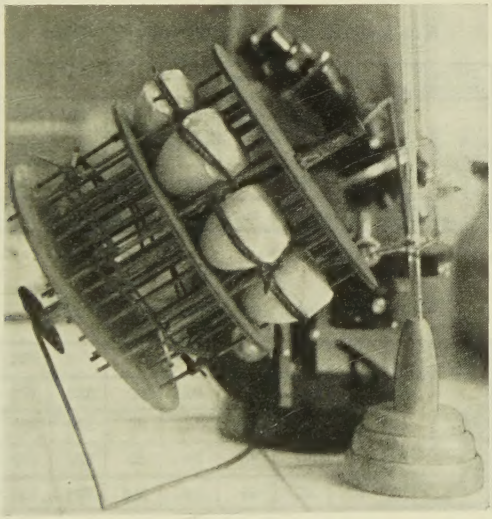

Abb. 1. Rotator im Neigungswinkel von 10°

Ergebnisse

Die im folgenden geschilderten Interferenzversuche wurden zwischen den Virusstämmen PR8 und A/2/Sing/1/57 ausgeführt. Die Viren wurden nur nach 2facher Reinigung verimpft. Vermehrungsfähige Viren wurden als „aktiv" bezeichnet im Gegensatz zu „inaktivierten", welche ihre Vermehrungsfähigkeit verloren hatten.

Verhalten der Virusstämme Asia und PR8 in Kontrollversuchen

Zunächst wurde in Kontrollversuchen das Verhalten aktiver PR8- und Asia-Viren gesondert untersucht. PR8-Virus wurde mit Tyrodelösung visuell auf einen Hämagglutinationsausgangstiter von 1:640 eingestellt. Je 10 ml dieser Virussuspension wurden in 8 „entembryonierte" Eier gefüllt, welche zuvor mit 4° C warmer physiologischer Kochsalzlösung gewaschen worden waren. Die numerierten Eier wurden 50 Min. im Brutschrank rotiert. Nach Ablauf dieser Adsorptionszeit wurden aus den Eiern 1 und 2 je 2 ml Medium entnommen, danach die Eier wieder in den Rotator eingespannt. Das entnommene Material wurde zusammengegeben und in 3 Reihen nebeneinander auf seine Hämagglutinationsfähigkeit geprüft. In gleicher Weise wurden die übrigen Flüssigkeitsentnahmen behandelt. Die Zeiten waren folgendermaßen festgesetzt:

2h 30' nach Versuchsbeginn je 8 ml aus Ei Nr. 1 und 2
3h 50' nach Versuchsbeginn je 10 ml aus Ei Nr. 3 und 4
5h nach Versuchsbeginn je 10 ml aus Ei Nr. 5 und 6
6h 15' nach Versuchsbeginn je 2 ml aus Ei Nr. 7 und 8
7h 30' nach Versuchsbeginn je 8 ml aus Ei Nr. 7 und 8.

Die angegebenen Entnahmezeiten, Flüssigkeitsmengen und die Reihenfolge in der Wahl der Eier wurden in allen weiteren Versuchen beibehalten. Neben der visuellen Hämagglutinationsbestimmung wurde jede entnommene Suspension auch photometrisch auf ihren Virusgehalt hin untersucht. Entsprechende Kontrollversuche wurden mit PR8 aktiv, Hämagglutinationsausgangstiter 1:160 (visuell), sowie mit aktiven Asia-Viren, Hämagglutinationsausgangstiter 1:640 und 1:160 (visuell), ausgeführt.

Aus den Tabellen 1, 2, 3, 4 sind die Ergebnisse der Kontrollversuche ersichtlich.

Tabelle 1

Kontrollversuch mit PR8 aktiv (1:640)

Zeit nach Versuchsbeginn		0	50'	2h30'	3h50'	5h	6h15'	7h30'
Hämagglutinationstiter visuell	1	640	320	640	1280	2560	2560	2560
	2	640	160	320	1280	2560	2560	5120
	3	640	320	640	1280	1280	2560	5120
photometrisch		857	1070	800	1070	1900	2100	2050

Tabelle 2

Kontrollversuch mit PR8 aktiv (1:160)

Zeit nach Versuchsbeginn		0	50'	2h30'	3h50'	5h	6h15'	7h30'
Hämagglutinationstiter visuell	1	160	40	80	80	80	320	640
	2	160	40	80	80	80	320	320
	3	160	40	80	80	80	320	320
photometrisch		101	60	69	89	130	527	632

Tabelle 3

Kontrollversuch mit Asia aktiv (1:640)

Zeit nach Versuchsbeginn		0	50'	2h30'	3h50'	5h	6h15'	7h30'
Hämagglutinationstiter visuell	1	640	1280	640	640	1280	1280	1280
	2	640	640	320	1280	1280	1280	2560
	3	640	1280	1280	1280*	1280	1280	1280
photometrisch		1615	1600	2400	>2400	>2400	>2500	>2500

Tabelle 4

Kontrollversuch mit Asia aktiv (1:160)

Zeit nach Versuchsbeginn		0	50'	2h30'	3h50'	5h	6h15'	7h30'
Hämagglutinationstiter visuell	1	160	80	80	80	80	160	320
	2	160	80	80	80	160	160	320
	3	160	80	80	80	160	160	320
photometrisch		133	132	220[2]	158	240	398	635

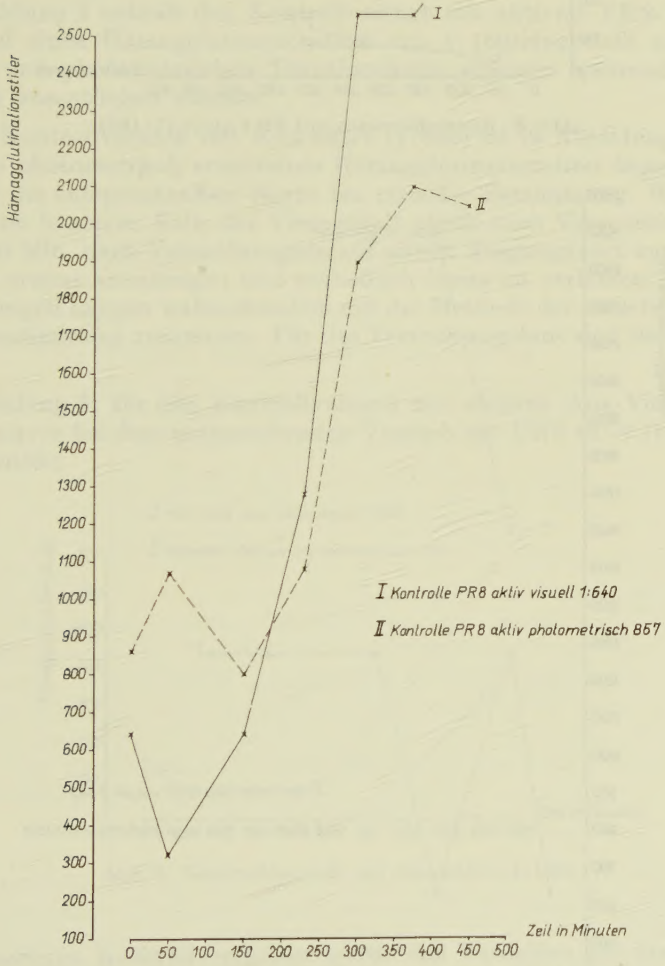

Abb. 2. Kontrollversuch mit PR8 aktiv (1:640)

Alle in den Kontrollversuchen ermittelten Hämagglutinationstiter wurden graphisch aufgezeichnet, um die einzelnen Ergebnisse anschaulicher darstellen zu können. Auf der Abszisse wurde die Zeit aufgetragen, die Ordinate enthielt die Werte der Hämagglutinationstiter.

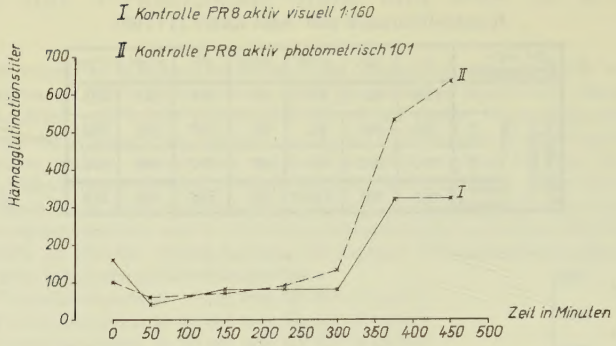

Abb. 3. Kontrollversuch mit PR 8 aktiv (1:160)

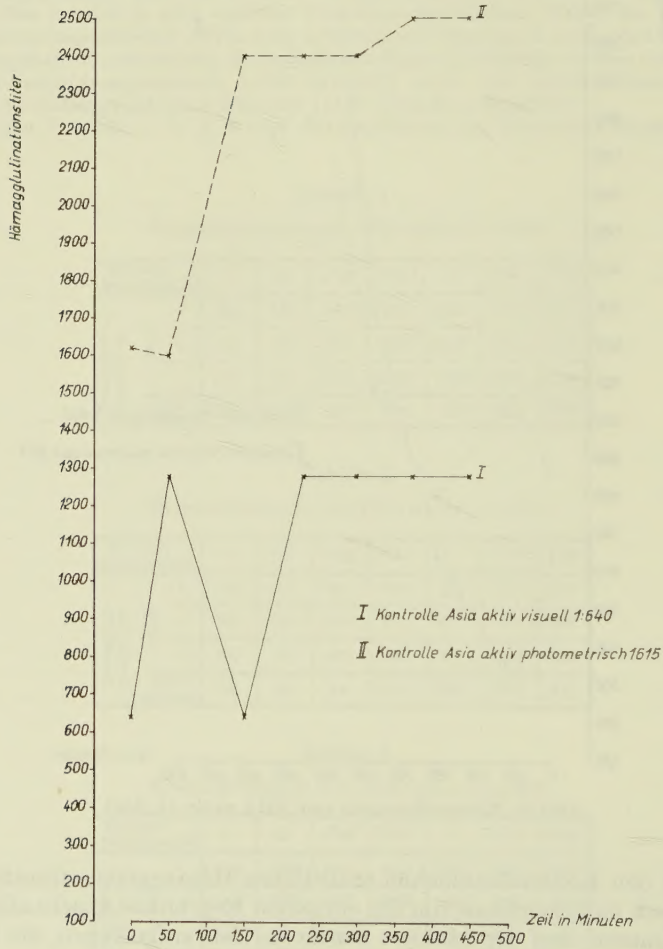

Abb. 4. Kontrollversuch mit Asia aktiv (1:640)

Abbildung 2 zeigt den Vermehrungsablauf für aktives PR8-Virus, dessen Hämagglutinationsausgangstiter visuell bei 1:640 lag. Der Kurvenverlauf der visuellen Werte entspricht etwa dem der photometrischen Hämagglutinationstiter mit Ausnahme, daß innerhalb der ersten 50 Min. die Viruskonzentration etwas abfällt, gemessen am visuellen Titrationswert. Die photometrische Hämagglutinationstitermessung läßt 50–150 Min. nach Versuchsbeginn eine verminderte Viruskonzentration erkennen. Diese Titerschwankungen sind jedoch unbedeutend und können im Gesamtablauf des Versuches unberücksichtigt bleiben.

Abbildung 3 enthält den Kontrollversuch mit aktivem PR8-Virus, das visuell auf einen Hämagglutinationstiter von 1:160 eingestellt wurde. Die visuellen und photometrischen Titrationswerte stimmen während des Versuches im wesentlichen überein.

Der Kontrollversuch mit Asia aktiv (1:640) ist in Abbildung 4 dargestellt. Die photometrisch ermittelten Hämagglutinationstiter liegen deutlich höher als die entsprechenden Werte bei visueller Bestimmung. Weiter fällt auf, daß im letzteren Falle der Virusgehalt gleich nach Versuchsbeginn ansteigt, 150 Min. nach Versuchsbeginn auf seinen Ausgangswert zurückkehrt, um dann erneut anzusteigen und schließlich linear zu verlaufen. Die Titerschwankungen hängen wahrscheinlich mit der Methode der visuellen Hämagglutininbestimmung zusammen. Für das Versuchsergebnis sind sie unwesentlich.

Abbildung 5: für den Kontrollversuch mit aktiven Asia-Viren (1:160) gilt, was zuvor bei dem entsprechenden Versuch mit PR8 aktiv (1:160) ausgeführt wurde.

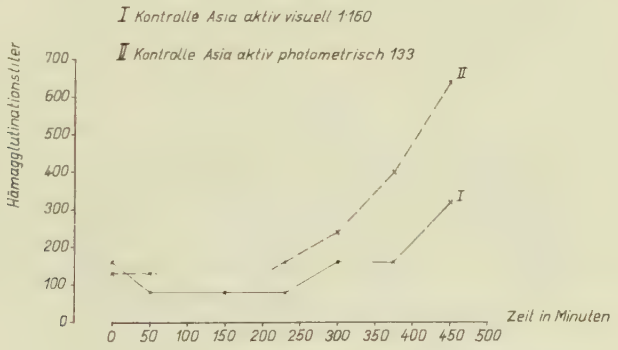

Abb. 5. Kontrollversuch mit Asia aktiv (1:160)

In weiteren Kontrollversuchen wurde das Verhalten der inaktivierten Virusstämme im „entembryonierten" Ei untersucht. Hierbei lagen die visuellen Hämagglutinationsausgangstiter für inaktiviertes PR8- und Asia-Virus wieder bei 1:640 bzw. 1:160.

Die Tabellen 5, 6, 7 und 8 enthalten eine Zusammenstellung der visuell und photometrisch ermittelten Hämagglutininkonzentrationen dieser Kontrollversuche.

Tabelle 5

Kontrollversuch mit PR8 inaktiv (1:640)

Zeit nach Versuchsbeginn		0	50'	2h30'	3h50'	5h	6h15'	7h30'
Hämagglutinationstiter visuell	1	640	160	160	160	320	320	80
	2	640	160	160	160	320	320	80
	3	640	160	160	160	320	320	80
photometrisch		736	421	352	445	409	258	361

Tabelle 6

Kontrollversuch mit PR8 inaktiv (1:160)

Zeit nach Versuchsbeginn		0	50'	2h30'	3h50'	5h	6h15'	7h30'
Hämagglutinationstiter visuell	1	160	80	40	80	80	80	40
	2	160	80	40	80	80	80	40
	3	160	80	40	80	80	80	40
photometrisch		476	188	170	194	152	177	102

Tabelle 7

Kontrollversuch mit Asia inaktiv (1:640)

Zeit nach Versuchsbeginn		0	50'	2h30'	3h50'	5h	6h15'	7h30'
Hämagglutinationstiter visuell	1	640	640	320	320	320	320	320
	2	640	320	320	320	320	320	640
	3	320	320	320	320	320	320	320
photometrisch		2787	1120	1253	1093	1653	2300	2058

Tabelle 8

Kontrollversuch mit Asia inaktiv (1:160)

Zeit nach Versuchsbeginn		0	50'	2h30'	3h50'	5h	6h15'	7h30'
Hämagglutinationstiter visuell	1	160	40	80	80	80	40	80
	2	160	40	40	80	80	80	80
	3	160	40	40	80	80	40	80
photometrisch		838	502	505	524	370	370	332

Abbildung 6 zeigt den Ablauf des Kontrollversuches mit inaktiviertem PR8-Virus, dessen visueller Hämagglutinationsausgangstiter bei 1:640 lag. Bis zum Zeitpunkt von 375 Min. nach Versuchsbeginn stimmen die visuell und photometrisch gefundenen Hämagglutininkonzentrationen annähernd überein. Nun fällt die visuell gefundene Viruskonzentration ab. Das photometrisch ermittelte Kurvenbild zeigt dagegen nur geringe Schwankungen.

Der Kontrollversuch mit inaktiviertem PR8-Virus (1:160) ist in Abbildung 7 enthalten. Photometrische und visuelle Hämagglutininkonzentrationen zeigen im Versuchsablauf übereinstimmendes Verhalten.

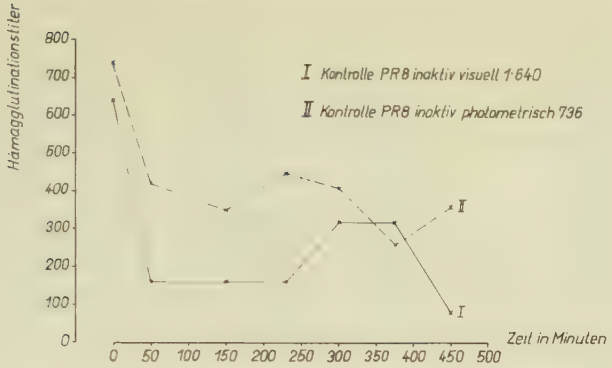

Abb. 6. Kontrollversuch mit PR8 inaktiv (1:640)

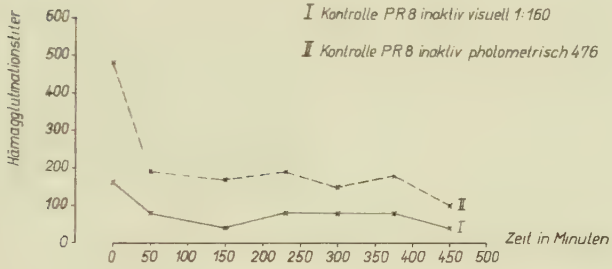

Abb. 7. Kontrollversuch mit PR8 inaktiv (1:160)

Abbildung 8 gibt einen Überblick über den Kontrollversuch mit inaktiviertem Asia-Virus mit dem visuellen Hämagglutinationsausgangstiter von 1:640. Während die visuellen Hämagglutininkonzentrationen 50 Min. nach Versuchsbeginn bis zum Versuchsende unverändert einen Titer von 1:320 erkennen lassen, zeigen die entsprechenden photometrischen Werte so große Schwankungen, daß ein Vergleich beider Kurvenbilder nicht möglich ist.

Abbildung 9 zeigt den Kontrollversuch mit inaktiviertem Asia-Virus (1:160). Hier liegen gleiche Versuchsergebnisse vor wie im entsprechenden Kontrollversuch mit inaktiviertem PR8-Virus.

Interferenzversuche zwischen den Virusstämmen Asia und PR 8

Das in den Kontrollversuchen ermittelte Verhalten von PR8- und Asia-Viren bei Hämagglutinationsausgangstitern von 1:640 und 1:160 (visuelle Hämagglutinationsbestimmung) wurde den Interferenzversuchen im „entembryonierten" Hühnerei zugrundegelegt. Die Versuche sollten klären, ob sich PR8- und Asia-Virus in ihrer Entwicklung gegenseitig beeinflussen, wenn sie nacheinander in das „entembryonierte" Ei gegeben werden. Das zuvor gegebene Virus wurde stets auf einen Hämagglutinationsausgangstiter von 1:640 eingestellt, während der des nachfolgenden Virus bei 1:160 lag.

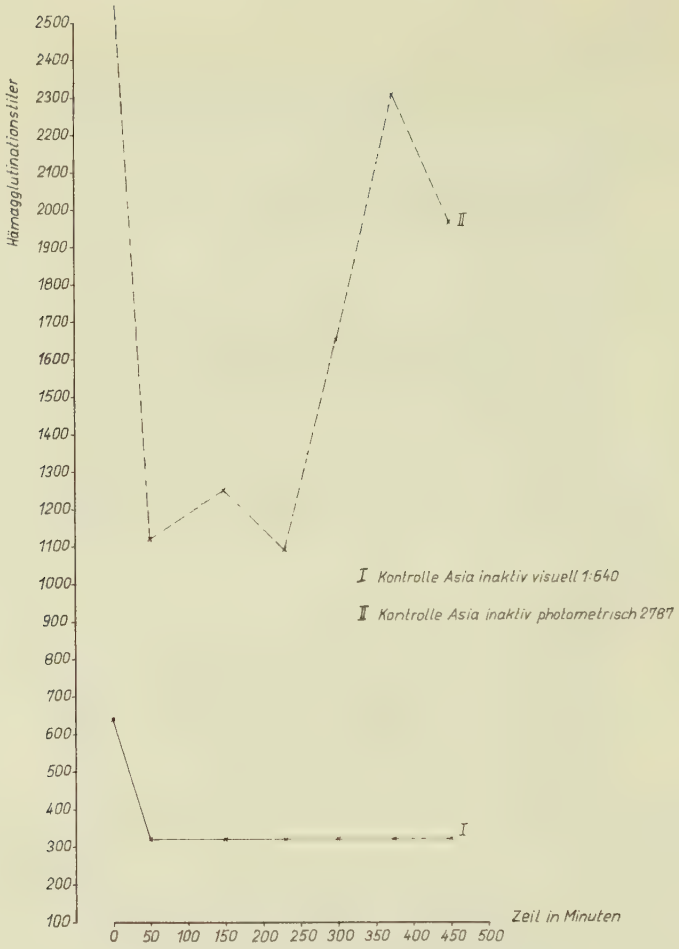

Abb. 8. Kontrollversuch mit Asia inaktiv (1:640)

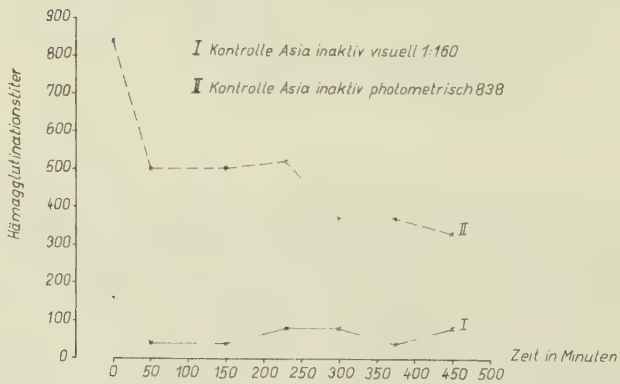

Abb. 9. Kontrollversuch mit Asia inaktiv (1:160)

Folgende Viruskombinationen konnten als Interferenzversuche ausgeführt werden:

1. PR8 aktiv (1:640) + Asia aktiv (1:160)
2. Asia aktiv (1:640) + PR8 aktiv (1:160)
3. PR8 aktiv (1:640) + Asia inaktiv (1:160)
4. Asia inaktiv (1:640) + PR8 aktiv (1:160)
5. PR8 inaktiv (1:640) + Asia aktiv (1:160)
6. Asia aktiv (1:1280) + PR8 inaktiv (1:160)
7. PR8 aktiv (1:640) + PR8 inaktiv (1:160)
8. PR8 inaktiv (1:320) + PR8 aktiv (1:160)
9. Asia aktiv (1:640) + Asia inaktiv (1:160)
10. Asia inaktiv (1:640) + Asia aktiv (1:160)

1. Interferenzversuch zwischen PR8 aktiv (1:640) und Asia aktiv (1:160)

In 8 „entembryonierte" Eier wurden je 10 ml PR8-Virus in Tyrode mit einem Hämagglutinationsausgangstiter von 1:640 gegeben, danach die Eier 50 Min. rotiert. Im Anschluß an die Virusadsorption wurde aus allen Eiern das Medium entnommen, zusammengegeben und durch Hämagglutination auf seinen Virusgehalt geprüft. Die Eier wurden nicht gewaschen, sondern gleich mit je 10 ml Asia-haltiger Tyrodelösung gefüllt, die auf einen Hämagglutinationstiter von 1:160 eingestellt worden war. Diesem zweiten Virus wurden ebenfalls 50 Min. zur Adsorption im Brutschrank gegeben. Aus allen Eiern wurden mehrmals Flüssigkeitsproben entnommen, entsprechend der im vorangestellten Kontrollversuch beschriebenen Weise. Neben der visuellen Methode der Hämagglutinationsbestimmung wurden die Suspensionen photometrisch auf ihren Virusgehalt untersucht. Der Ablauf des Interferenzversuches findet sich in Tabelle 9.

Tabelle 9

Interferenzversuch zw. PR8 aktiv (1:640) und Asia aktiv (1:160)

Virus		PR8 aktiv vorgegeben		Virus		Asia akt. nachgeg.	PR8 aktiv + Asia aktiv					
Zeit nach Gabe d. 1. Virus		0	50'	Zeit nach Gabe d. 2. Virus		0	50'	2h30'	3h50'	5h	6h15'	7h30'
HA-Titer visuell		640	320	HA-Titer visuell		160	80	160	160	320	320	640
HA-Titer photometrisch	Virusgehalt (VG)	698	613	HA-Titer photometrisch	Virusgehalt (VG)	195		160	148	212	572	303
	VG PR8	698	613		VG PR8			35	47	68	179	189
	%	100	100		%			21,9	31,8	32,1	31,3	62,4
					VG Asia	195		125	101	144	393	114
					%	100		78,1	68,2	67,9	68,7	37,6

Die in Tabelle 9 zusammengestellten photometrischen Titrationswerte für Asia- und PR8-Viren werden in der graphischen Darstellung der Abbildung 10 zu den entsprechenden photometrischen Ergebnissen der Kontrollversuche in Beziehung gesetzt. Bei dieser Art der Darstellung wurde der gegenüber dem 1. Virus um 50 Min. verschobene Start des 2. Virus gesondert

berücksichtigt: Den Entnahmezeiten für das 2. Virus von 50 Min, 2 Std. 30', 3 Std. 50', 5 Std., 6 Std. 15' und 7 Std. 30' entsprechen für das 1. Virus die Zeiten von 1 Std. 40', 3 Std. 20', 4 Std. 40', 5 Std. 50', 7 Std. 05' und 8 Std. 20'.

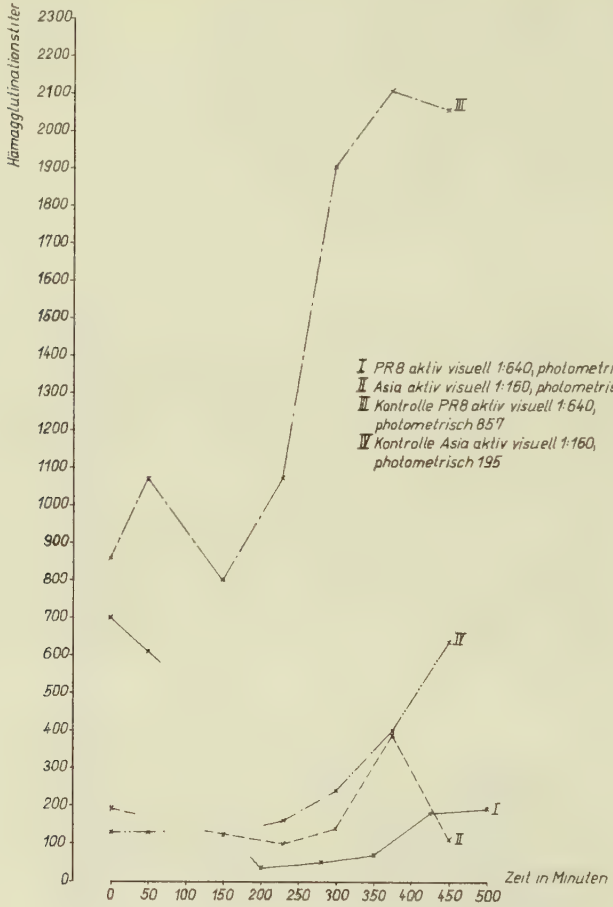

Abb. 10. Interferenzversuch zw. PR8 aktiv (1:640) und Asia aktiv (1:160)

In Abbildung 10 zeigt PR8-Virus im Vergleich mit der entsprechenden Kontrolle ein eigenartiges Verhalten. Der zu Versuchsbeginn ermittelte Virusgehalt, angegeben mit einem Titrationswert von 700, nimmt kontinuierlich ab und erreicht 200 Min. nach Versuchsbeginn als niedrigsten Wert einen Titer von 40; danach erfolgt ein nur unbedeutender Viruszuwachs. Die Hämagglutinationswerte für Asia-Virus entsprechen weitgehend denen des Kontrollversuches bis zum Zeitpunkt von 375 Min. An dieser Stelle fällt die Viruskonzentration stark ab, während aus der Kontrollkurve ein weiterer Anstieg ersichtlich ist. Der Abfall der Hämagglutininkonzentration von Asia-Virus stimmt zeitlich mit der Zunahme des PR8-Virusgehaltes überein.

Tabelle 10

Interferenzversuch zw. Asia aktiv (1:640) und PR 8 aktiv (1:160)

Virus	Asia aktiv vorgegeben		Virus	PR8 akt. nachgeg.	Asia aktiv + PR 8 aktiv					
Zeit nach Gabe d 1 Virus	0	50'	Zeit nach Gabe d 2 Virus	0	50'	2h30'	3h50'	5h	6h15'	7h30'
HA-Titer visuell	640	640	HA-Titer visuell	160	160	160	320	320	640	1280
HA-Titer photometrisch: Virusgehalt (VG)	1741	2454	Virusgehalt (VG)	228	173	183	273	465	700	700
VG Asia	1741	2454	VG Asia		86	73	160	298	600	580
% Asia	100	100	% Asia		49,7	39,9	58,6	64,1	85,7	82,9
			VG PR8	228	87	110	113	167	100	120
			% PR8	100	50,3	60,1	41,4	35,9	14,3	17,1

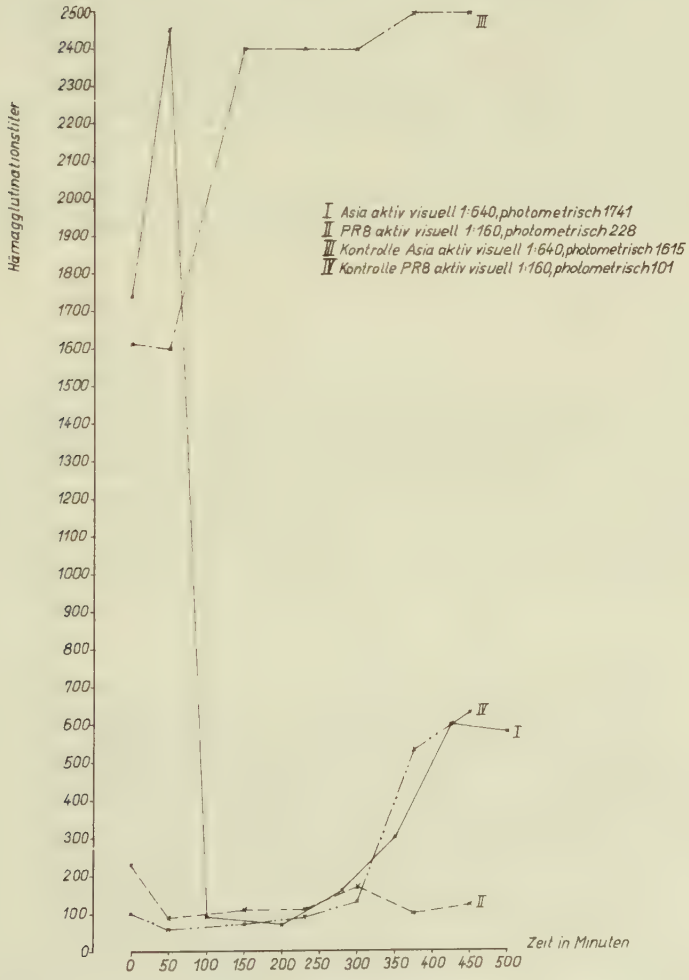

Abb. 11. Interferenzversuch zw. Asia aktiv (1:640) und PR 8 aktiv (1:160)

Nachfolgendes heterologes Asia-Virus hemmt also die Vermehrung von PR8-Virus im „entembryonierten" Hühnerei.

Im 2. Interferenzversuch sollte die Möglichkeit einer reziproken Interferenz zwischen PR8 und Asia-Viren untersucht werden.

2. Interferenzversuch zwischen Asia aktiv (1:640) und PR8 aktiv (1:160)

Der Versuchsablauf entsprach dem soeben geschilderten, nur wurde die Reihenfolge beider Virusarten geändert. Die 8 „entembryonierten" Eier wurden zuerst mit asiahaltiger Tyrodelösung gefüllt, welche nach 50 Min. gegen PR8-Virus ausgetauscht wurde.

Ein Überblick über den Versuchsablauf findet sich in Tabelle 10, die entsprechende graphische Darstellung in der Abbildung 11.

Aus Abbildung 11 geht hervor, daß sich die PR8-Viren während des Versuchsablaufes nicht vermehrt haben. Obwohl der Hämagglutiningehalt an Asia-Virus nach sehr starkem Konzentrationsverlust 200 Min. nach Versuchsbeginn wieder langsam zunimmt, bleibt der Virusanstieg im Vergleich mit dem Kontrollversuch nur unbedeutend. PR8-Virus hat das zuerst in die Eier gegebene Asia-Virus in seiner Entwicklung gehemmt, dessen Vermehrung aber nicht ausgeschlossen.

Die folgenden Versuche befassen sich mit dem Interferenzphänomen zwischen homologen aktiven und heterologen, durch Formalin inaktivierten Viren.

3. Interferenzversuch zwischen PR8 aktiv (1:640) und Asia inaktiv (1:160)

Die Versuchsanordnung und die Art der Kurvendarstellung sind bekannt.

Tabelle 11 und Abbildung 12 enthalten die Versuchsergebnisse.

Der in Abbildung 12 dargestellte Interferenzversuch zeigt, daß nachfolgend gegebenes inaktiviertes Asia-Virus das vorangehende aktive PR8-Virus in seiner Entwicklung beeinflußt. Es setzt zuvor eine Virusvermehrung ein, doch bleibt diese im Vergleich mit den entsprechenden Kontrollwerten nur unvollkommen. Die Hämagglutininbeträge von inaktiviertem Asia-Virus sind im Kontroll- und Hauptversuch ähnlichen Schwankungen unterworfen.

Tabelle 11

Interferenzversuch zw. PR8 aktiv (1:640) und Asia inaktiv (1:160)

Virus		PR8 aktiv vorgegeben		Virus		Asia inaktiv nachgeg.	PR8 aktiv + Asia inaktiv					
Zeit nach Gabe d. 1. Virus		0	50'	Zeit nach Gabe d. 2. Virus		0	50'	2h30'	3h50'	5h	6h15'	7h30'
HA-Titer visuell		640	320	HA-Titer visuell		160	320	320	320	320	640	320
HA-Titer photometrisch	Virusgehalt (VG)	1136	1116	HA-Titer photometrisch	Virusgehalt (VG)	531	780	930	950	1170	1300	1380
	VG PR8	1136	1116		VG PR8		350	625	575	755	855	910
	%	100	100		%		44,9	67,3	60,5	64,5	65,8	66,0
					VG Asia	531	430	305	375	415	445	470
					%	100	55,1	32,7	39,5	35,5	34,2	34,0

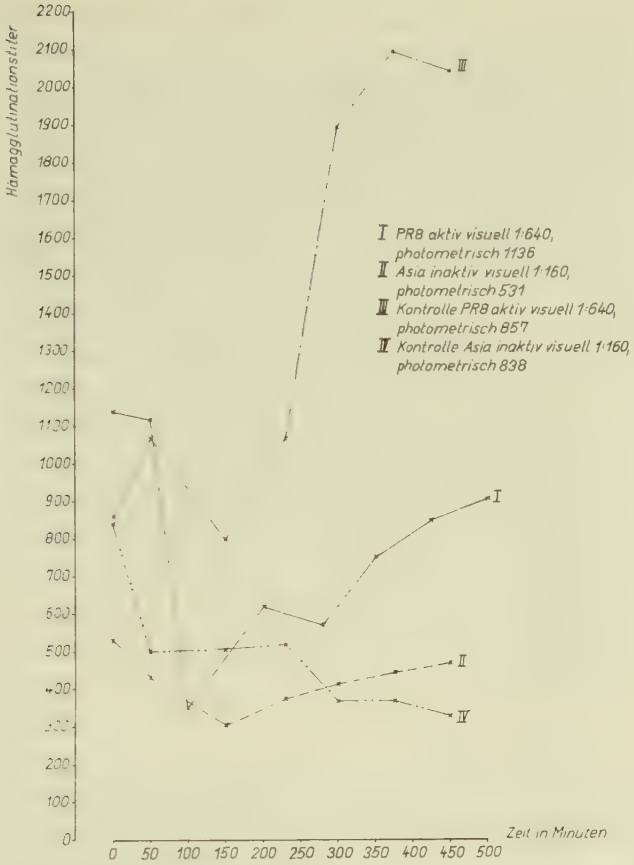

Abb. 12. Interferenzversuch zw. PR 8 aktiv (1:640) und Asia inaktiv (1:160)

4. Interferenzversuch zwischen Asia inaktiv (1:640) und PR 8 aktiv (1:160)

Die in Tabelle 12 zusammengestellten Hämagglutinationstiter sind in Abbildung 13 aufgezeichnet.

Das Versuchsergebnis geht aus Abbildung 13 hervor. Das zuerst in die Eier gegebene inaktivierte Asia-Virus fällt in seiner Konzentration 50–100 Min. nach Versuchsbeginn stark ab und bleibt dann konstant. Dieses Ergebnis läßt sich mit den für inaktiviertes Asia-Virus gefundenen Kontrollwerten nicht vergleichen. Die Hämagglutininkonzentrationen weisen zu unterschiedliche Titer auf und können daher nicht gewertet werden. Hatte im vorherigen Interferenzversuch nachfolgend gegebenes inaktiviertes Asia-Virus das vorangehende aktive PR 8 in seiner Entwicklung beeinflußt, so konnte sich im Gegensatz dazu aktives PR 8-Virus ungehemmt vermehren (Vergleich mit der Kontrolle), wenn inaktiviertes Asia-Virus vorgegeben wurde.

Tabelle 12

Interferenzversuch zw. Asia inaktiv (1:640) und PR 8 aktiv (1:160)

Virus		Asia inaktiv vorgegeben		Virus	PR8akt. nachgeg.	Asia inaktiv + PR8 aktiv					
Zeit nach Gabe d 1 Virus		0	50'	Zeit nach Gabe d 2. Virus	0	50'	2h30'	3h50'	5h	6h15'	7h30'
HA-Titer visuell		640	640	HA-Titer visuell	160	320	160	160	160	640	320
HA-Titer photometrisch	Virusgehalt (VG)	1642	1700	Virusgehalt (VG)	324	520	410	470	620	820	930
	Asia V.G.	1642	1700	Asia V.G.		158	132	146	155	183	175
	Asia %	100	100	Asia %		30,4	32,2	31,1	25,0	22,3	18,8
				PR8 V.G.	324	362	278	324	465	637	755
				PR8 %	100	69,6	67,8	68,9	75,0	77,7	81,2

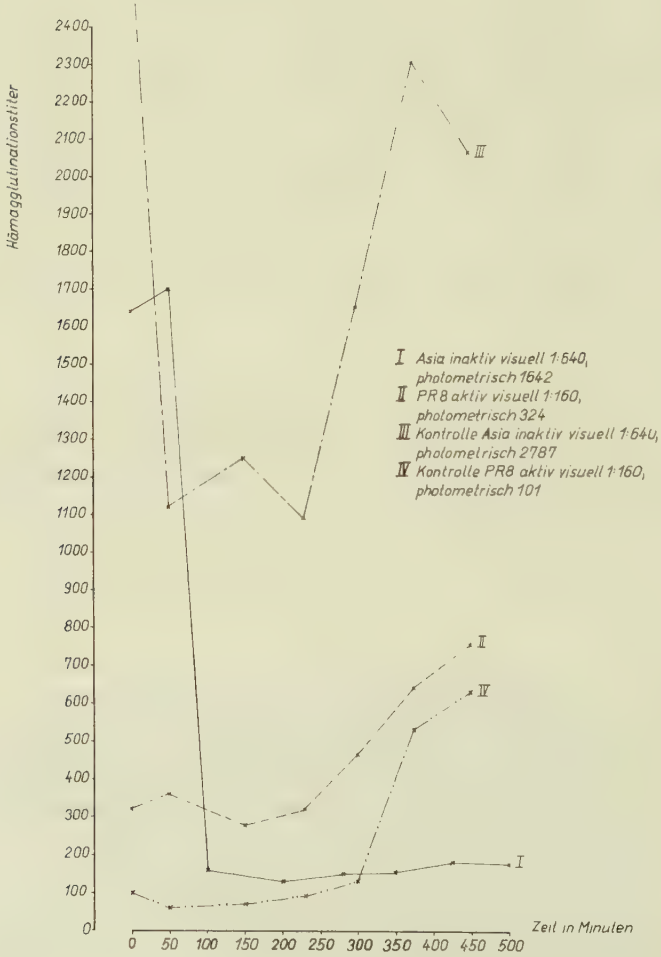

Abb. 13. Interferenzversuch zw. Asia inaktiv (1:640) und PR 8 aktiv (1:160)

5. Interferenzversuch zwischen PR 8 inaktiv (1 : 640) und Asia aktiv (1 : 160)

Über den Versuchsablauf geben Tabelle 13 und Abbildung 14 Auskunft. Aus Abbildung 14 ist ersichtlich, daß das vorgegebene inaktivierte PR8-Virus bis zum Zeitpunkt von 375 Min. nach Versuchsbeginn nur unbedeutenden Einfluß auf die Entwicklung aktiver Asia-Viren genommen hat. Erst jetzt weicht die für Asia-Virus experimentell gefundene Kurve von den Kontrollwerten ab. Die Hämagglutininkonzentrationen für inaktiviertes PR8-Virus stimmen im Haupt- und Kontrollversuch annähernd überein.

Tabelle 13

Interferenzversuch zw. PR8 inaktiv (1:640) und Asia aktiv (1:160)

Virus		PR8 inaktiv vorgegeben		Virus	Asia akt. nachgeg.	PR8 inaktiv + Asia aktiv					
Zeit nach Gabe d. 1. Virus		0	50'	Zeit nach Gabe d. 2. Virus	0	50'	2h30'	3h50'	5h	6h15'	7h30'
HA-Titer visuell		640	640	HA-Titer visuell	160	80	160	160	160	320	320
HA-Titer photometrisch	Virusgehalt (VG)	1687	1550	Virusgehalt (VG)	403	405	475	455	600	700	610
	VG PR8	1687	1550	VG PR8		252	192	235	284	280	290
	%	100	100	%		62,2	40,4	51,7	47,3	40,0	47,5
				VG Asia	403	153	283	220	316	420	320
				%	100	37,8	59,6	48,3	52,7	60,0	52,5

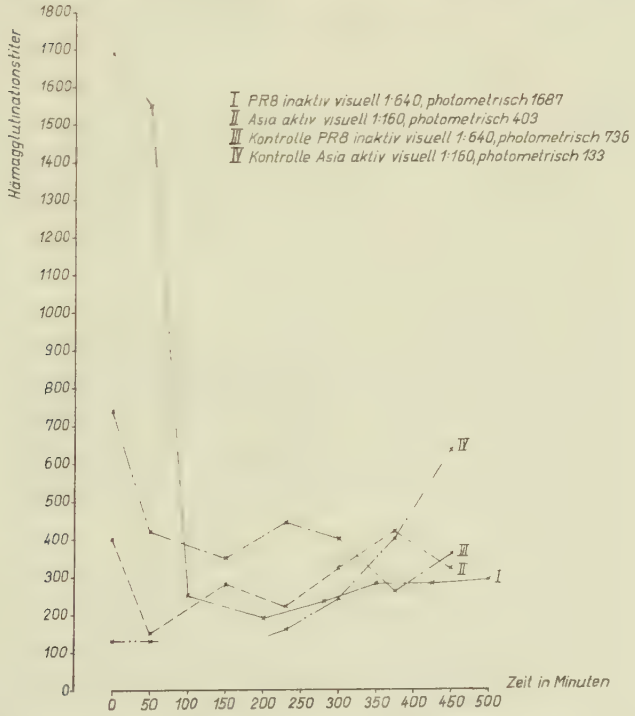

Abb. 14. Interferenzversuch zw. PR8 inaktiv (1:640) und Asia aktiv (1:160)

Tabelle 14

Interferenzversuch zw. Asia aktiv (1:1280) und PR 8 inaktiv (1:160)

Virus		Asia aktiv vorgegeben		Virus		PR8 inak nachgeg.	Asia aktiv + PR8 inaktiv					
Zeit nach Gabe d. 1. Virus		0	50'	Zeit nach Gabe d. 2 Virus		0	50'	2h30'	3h50'	5h	6h15'	7h30'
HA-Titer visuell		1280	1280	HA-Titer visuell		160	160	160	320	1280	2560	1280
HA-Titer photometrisch	Virusgehalt (V.G.)	1843	1700	HA-Titer photometrisch	Virusgehalt (V.G.)	447	470	630	820	1800	2000	1800
	V.G. Asia	1843	1700		V.G. Asia		120	220	280	1300	1530	1400
	%	100	100		%		25,5	34,9	34,2	72,2	76,5	77,8
					V.G. PR8	447	350	410	540	500	470	400
					%	100	74,5	65,1	65,9	27,8	23,5	22,2

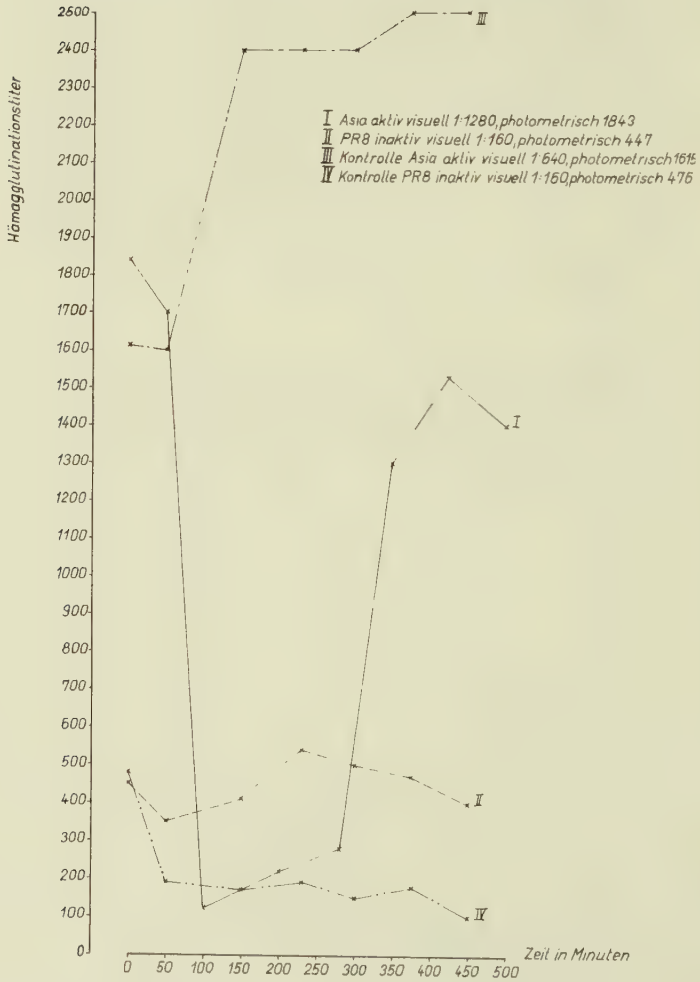

Abb. 15. Interferenzversuch zw. Asia aktiv (1:1280) und PR 8 inaktiv (1:160)

6. Interferenzversuch zwischen Asia aktiv (1:1280) und PR8 inaktiv (1:160)

Das vorgegebene aktive Asia-Virus ließ sich visuell nicht auf einen Hämagglutinationsausgangstiter von 1:640 einstellen; die Viruskonzentration entsprach einem Titer von 1:1280.

Der Versuchsablauf findet sich in Tabelle 14, die graphische Darstellung in Abbildung 15.

Abbildung 15 beleuchtet die gegenseitige Beeinflußung aktiver Asia- und inaktivierter PR8-Viren unter Berücksichtigung der vorangestellten Kontrollversuche. Nachfolgend gegebenes inaktives PR8-Virus greift in den Entwicklungsvorgang des vorangehenden aktiven Asia-Virus ein. Der Asia-Virusgehalt nimmt bis 100 Min. nach Versuchsbeginn sehr stark ab und steigt dann an. Bei 450 Min. erreicht er seinen Höhepunkt. Danach setzt erneut ein langsamer Abfall ein. Es gelingt Asia-Virus nicht, die im Kontrollversuch ermittelten Hämagglutininkonzentrationen zu erreichen. Das Kurvenbild von inaktiviertem PR8-Virus gleicht dem des Kontrollversuches.

An 4 weiteren Interferenzversuchen wird gezeigt, wie sich aktives und inaktives Virus vom homologen Typ gegenseitig beeinflussen. Photometrisch lassen sich aktives und inaktives Virus des homologen Types nicht ohne weiteres trennen. Daher können in diesen 4 Interferenzversuchen genauere Angaben über die Wechselbeziehungen der Viren nicht gemacht werden.

7. Interferenzversuch zwischen PR8 aktiv (1:640) und PR8 inaktiv (1:160)

Tabelle 15 enthält neben den photometrischen auch die visuellen Hämagglutinationstiter für PR8 aktiv – PR8 inaktiv gemeinsam. In Abbildung 16 findet sich die graphische Darstellung der Versuchsergebnisse und deren Beziehung zu den Kontrollversuchen.

Tabelle 15

Interferenzversuch zw. PR8 aktiv (1:640) und PR8 inaktiv (1:160)

Virus	PR8 aktiv vorgegeben		Virus	PR8 inak nachgeg	PR8 aktiv + PR8 inaktiv					
Zeit nach Gabe d. 1 Virus	0	50'	Zeit nach Gabe d. 2 Virus	0	50'	2h30'	3h50'	5h	6h15'	7h30'
HA-Titer visuell	640	320	HA-Titer visuell	160	160	320	320	320	640	640
HA-Titer photometr.	1680	750	HA Titer photometr	550	1050	760	760	1350	2300	2300

Vergleicht man in Abbildung 16 die für PR8 aktiv + inaktiv photometrisch und auch visuell gefundenen Kurven, so nimmt die Viruskonzentration während des Versuchsablaufes zu. Aus der Gegenüsbertellung dieser beiden Kurven mit den für aktives und inaktives PR8-Virus festgelegten Kontrollwerten ergibt sich, daß das zuerst in die Eier gegebene aktive PR8-Virus in seiner Vermehrung durch nachfolgendes inaktives PR8 nicht beeinflußt worden ist.

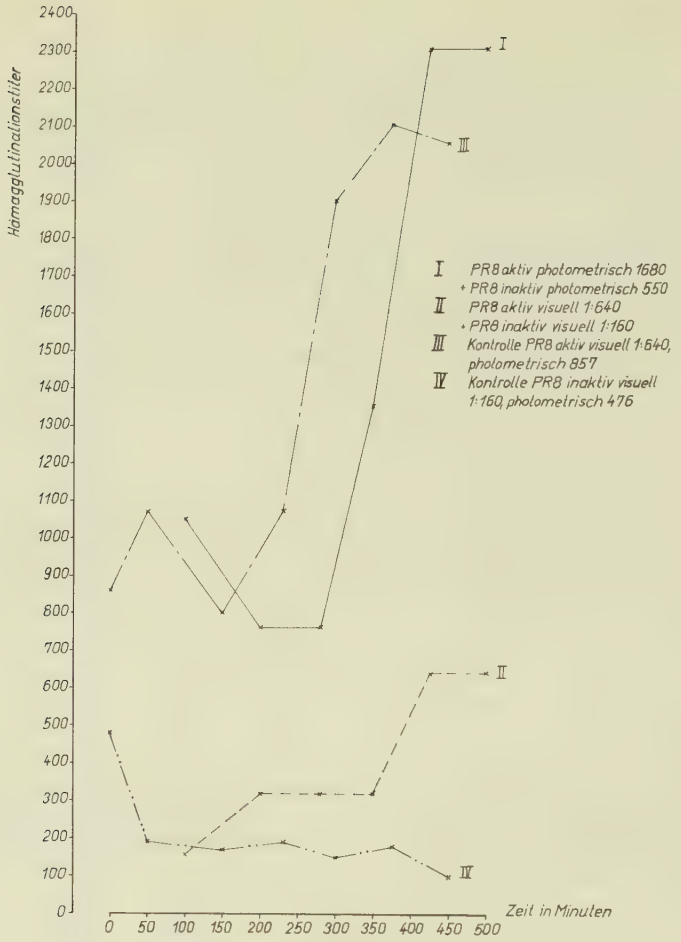

Abb. 16. Interferenzversuch zw. PR 8 aktiv (1:640) und PR 8 inaktiv (1:160)

8. Interferenzversuch zwischen PR 8 inaktiv (1:320) und PR 8 aktiv (1:160)

Der Hämagglutinationsausgangstiter des vorgegebenen inaktivierten PR8-Virus lag in diesem Interferenzversuch mit 1:320 um eine Stufe zu niedrig.

Tabelle 16 und Abbildung 17 veranschaulichen das Versuchsergebnis.

Abbildung 17: Die visuell ermittelten Hämagglutinationstiter für PR 8 inaktiv und aktiv betragen während der Versuchsdauer unverändert 1:40. Die aus den photometrischen Titrationswerten zusammengesetzte Kurve steigt nur wenig an. Im Vergleich mit den für aktives PR 8-Virus gefundenen Kontrollergebnissen zeigt der Versuch, daß das zuerst gegebene inaktive PR 8-Virus die Vermehrung nachfolgender aktiver PR 8-Viren deutlich unterdrückt.

Tabelle 16

Interferenzversuch zw. PR 8 inaktiv (1:320) und PR 8 aktiv (1:160)

Virus	PR8 inaktiv vorgegeben		Virus	PR8akt. nachgeg.	PR8 inaktiv + PR8 aktiv					
Zeit nach Gabe d 1 Virus	0	50'	Zeit nach Gabe d 2 Virus	0	50'	2^30'	3^50'	5^h	6^15'	7^30'
HA-Titer visuell	320	20	HA-Titer visuell	160	40	40	40	40	40	40
HA-Titer photometr.	1780	1300	HA-Titer photometr.	450	110	155	155	260	160	180

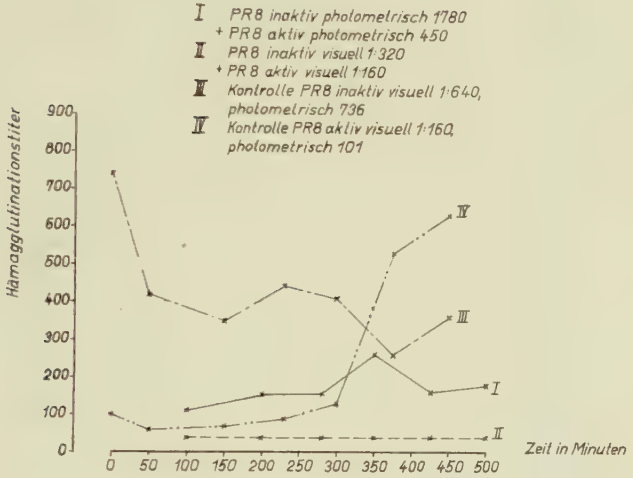

Abb. 17. Interferenzversuch zw. PR 8 inaktiv (1:320) und PR 8 aktiv (1:160)

9. Interferenzversuch zwischen Asia aktiv (1:640) und Asia inaktiv (1:160)

Für die in Tabelle 17 und Abbildung 18 aufgezeichneten Ergebnisse gilt, was für den Interferenzversuch zwischen PR 8 aktiv (1:640) und PR 8 inaktiv (1:160) ausgeführt wurde. Nur kann sich Asia-Virus nicht in dem Maße vermehren, wie nach dem Kontrollversuch zu erwarten wäre.

Tabelle 17

Interferenzversuch zw. Asia aktiv (1:640) und Asia inaktiv (1:160)

Virus	Asia aktiv vorgegeben		Virus	Asia inak. nachgeg.	Asia aktiv + Asia inaktiv					
Zeit nach Gabe d 1 Virus	0	50'	Zeit nach Gabe d 2 Virus	0	50'	2^30'	3^50'	5^h	6^15'	7^30'
HA-Titer visuell	640	320	HA-Titer visuell	160	160	320	320	320	640	640
HA-Titer photometr.	?	212?	HA-Titer photometr.	?	136	176	151	187	298	950

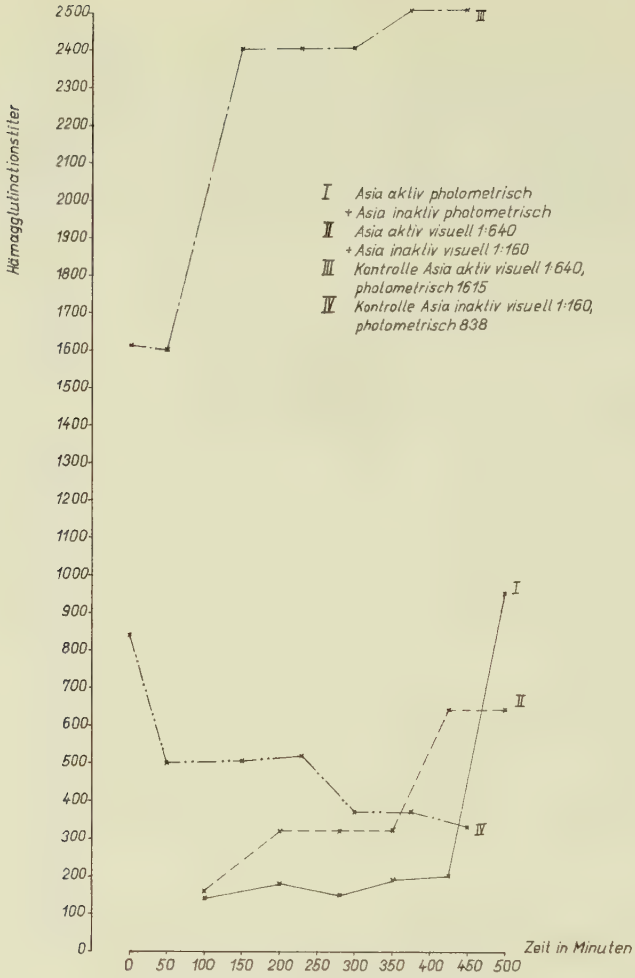

Abb. 18. Interferenzversuch zw. Asia aktiv (1:640) und Asia inaktiv (1:160)

10. Interferenzversuch zwischen Asia inaktiv (1:640) und Asia aktiv (1:160)

Die Versuchsergebnisse sind in Tabelle 18 und Abbildung 19 zusammengefaßt. Sie stimmen im wesentlichen mit den unter Nr. 8) geschilderten Verhältnissen überein. Vorangehendes inaktives Asia-Virus hat die Vermehrung aktiver Asia-Viren verhindert. Der mit inaktiviertem Asia-Virus ausgeführte Kontrollversuch trägt nicht zum besseren Verständnis dieses Interferenzversuches bei. Der Kontrollversuch kann wegen der schwankenden Hämagglutininkonzentrationen nicht gewertet werden.

Tabelle 18

Interferenzversuch zw. Asia inaktiv (1:640) und Asia aktiv (1:160)

Virus	Asia inaktiv vorgegeben		Virus	Asia akt. nachgeg.	Asia inaktiv + Asia aktiv					
Zeit nach Gabe d 1 Virus	0	50'	Zeit nach Gabe d 2 Virus	0	50'	2^30'	3^50'	5^h	6^15'	7^30'
HA-Titer visuell	640	640	HA-Titer visuell	160	160	160	160	320	320	320
HA-Titer photometr	2553	?	HA-Titer photometr	?	153	156	170	95	260	234

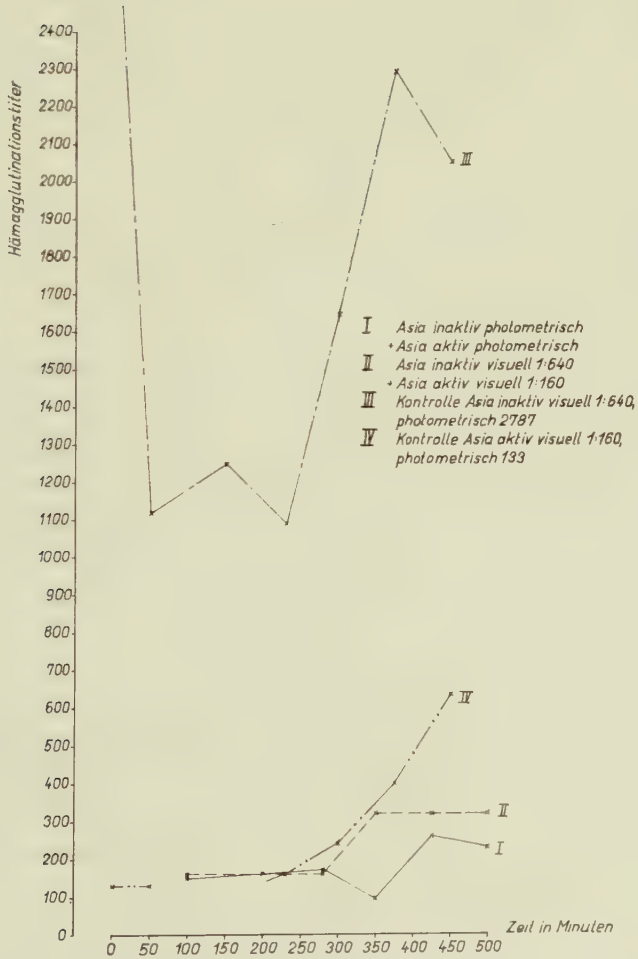

Abb. 19. Interferenzversuch zw. Asia inaktiv (1:640) und Asia aktiv (1:160)

Diskussion der Ergebnisse

Interferenzversuche zwischen Influenzaviren lassen sich in der Gewebekultur, dem lebenden Hühnerembryo und „entembryonierten" Brutei ausführen. Immer handelt es sich um lebende, einen Stoffwechsel unterhaltende Zellen.

Aus Versuchen ist bekannt, daß eine Interferenz zwischen Influenzaviren schon 1 Min. nach der Infektion der Zellen mit Viren deutlich wird (Henle, Henle und Kirber, 1947). Das zuerst in die Wirtszelle eingedrungene Virus beansprucht deren Stoffwechsel. Gelangt nun Virus einer zweiten Virusart in dieselbe Wirtszelle (s. Isaacs und Edney, 1950, b), steht der Zellstoffwechsel nicht mehr zur Verfügung. Die Wirtszelle befindet sich dem zweiten Virus gegenüber gleichsam in der Refraktärphase. Erst wenn der Zellstoffwechsel wieder Zelleiweiß und Zellnukleinsäure aufbaut, kann erneut die Virusbildung ablaufen. Die Ablenkbarkeit des Stoffwechsels der Wirtszellen durch verschiedene Virusarten äußerst sich in der Erscheinung der Interferenz: Das zuerst in eine Zelle eindringende Virusteilchen kann sich ungehemmt vermehren, dagegen hängt der Vermehrungsablauf eines nachfolgenden Virus von dem dafür freien oder beanspruchten Stoffwechsel der Wirtszelle ab.

Im Sinne dieser Hypothese sollen die Ergebnisse der einzelnen Interferenzversuche an Influenzaviren betrachtet werden.

Zuvor ist jedoch die Frage zu klären, ob überhaupt Virusteilchen von verschiedenen Virusarten in die gleiche Zelle eindringen können.

Daß eine Zelle der Chorioallantoismembran mehr als ein Virusteilchen – sei es aktiv oder inaktiviert – aufnehmen kann, ist bekannt (Isaacs und Edney, 1950, b; Fazekas de St. Groth und Edney, 1952; Cairns und Edney, 1952; Horsfall, 1955; Fazekas de St. Groth und Graham, 1954; von Magnus, 1952). Wird die Wirtszelle gleichzeitig durch interferierendes und challenge-Virus infiziert, vermehren sich beide Virusarten (Henle, 1950; Ziegler und Horsfall, 1944) und führen zur Bildung rekombinierter Viren (Burnet, 1955). Auch Schlesinger (1959) vertritt die Auffassung der multiplen Infektion der Wirtszellen; eine Zelle, welche inaktivierte Virusteilchen aufgenommen hat, kann zusätzlich durch aktives Virus infiziert werden. Gleiche Aussagen werden von Isaacs und Edney (1950, b) gemacht. Jedoch kann die Vermehrung des aktiven Virus in den infizierten Wirtszellen ausgeschlossen werden (Fazekas de St. Groth und Edney, 1952). Weiter ist bekannt, daß die Adsorption inaktivierter Viren an die Zellen der Chorioallantoismembran nicht die zusätzliche Adsorption homologer oder auch heterologer inaktivierter Viren ausschließt (Henle, Henle und Kirber, 1947). Dulbecco (1955) läßt die Frage noch offen, ob im Falle der Interferenz das challenge-Virus in die durch das interferierende Virus bereits infizierte Zelle eindringt. Auf Grund der Literaturangaben kann wohl als sicher angenommen werden, daß eine virusinfizierte Zelle weiteres Virus aufnehmen kann. Diese Tatsache soll als weitere Grundlage dazu dienen, eine mögliche Definition des Interferenzbegriffes zu geben.

Als wohl älteste Theorie der Interferenzentwicklung gilt die Blockade von Rezeptoren, die oberflächlich in den Zellen der Chorioallantoismembran liegen (Lennette, 1951; von Magnus, 1947; Liu, 1956). Gegen diese Vorstellung spricht, daß der als Polysaccharid-Protein-Komplex (Henle, 1950)

bekannte Rezeptor von den Zellen der Chorioallantoismembran schnell wieder aufgebaut werden kann (Sinkovics, 1956). Außerdem verlieren durch Erhitzen inaktivierte Viren ihre Enzymaktivität, während die Interferenzfähigkeit erhalten bleibt. Vielleicht liegt hier die Erklärung dafür, daß das Interferieren durch UV-inaktivierte Viren schneller eingeleitet wird als durch hitze-inaktivierte Viruspartikel (Dulbecco, 1955).

Die Zerstörung der Zellrezeptoren als Voraussetzung für die Interferenzentwicklung anzunehmen, muß noch aus einem anderen Grunde abgelehnt werden: Viruspräparationen können ihre Interferenzfähigkeit nach Bestrahlung mit UV-Licht verlieren, dennoch werden solche Viren aber an Hühnererythrocyten gebunden und agglutinieren sie. (Henle und Henle, 1944, a; Henle und Henle, 1945, a). Würde für den Interferenzvorgang die Zerstörung oder Blockade von Zellrezeptoren erforderlich sein, dann dürfte das Interferenzphänomen nicht auftreten, wenn die Zellrezeptoren vor der Virusinfektion ausgeschaltet werden (Stone, 1948).

Als weitere Erklärung der Interferenz wird die Enzym-Substrat-Hypothese herangezogen (Henle, 1950; Lennette, 1951; Sinkovics, 1956; Ginsberg und Horsfall, 1949; Burnet, 1955; Hirst, 1942): Innerhalb der Wirtszelle bewerben sich interferierendes und challenge-Virus um spezifische Enzyme, die für ihre Vermehrung unentbehrlich sind. Demnach müßten die Viren als „Substrat" (Leuthardt, 1957) eine Verbindung mit den Zellfermenten eingehen, was die Auslösung verschiedener Reaktionen nach sich zieht. Wenn auch derartige Enzyme für die Virusvermehrung als erforderlich angegeben werden (Henle, 1950), so ließe sich aber die Erscheinung der Interferenz zwischen aktiven und inaktivierten Viren auf diese Weise nicht ohne weiteres erklären, da inaktivierte Viruspartikel die Fähigkeit der Vermehrung eingebüßt haben. Könnten aber inaktivierte Viren den Zellstoffwechsel drosseln, indem sie die betreffenden Fermente binden? Hiermit ließe sich auch die Wachstumshemmung der Zellen der Chorioallantoismembran erklären, die durch UV-inaktivierte Viren hervorgerufen wird (Henle, 1950; Henle, 1949, a; Henle, Henle und Kirber, 1947).

In den letzten Jahren wird immer mehr die Ansicht vertreten, daß Interferenz eine intrazelluläre Erscheinung ist und mit dem Stoffwechsel der Wirtszellen in engem Zusammenhang steht (Sinkovics, 1956; Lennette 1951). Hierbei sollen Veränderungen in den Zellen auftreten (Schäfer, 1958). Welcher Art diese Veränderungen sein könnten, ist als Erklärung des Interferenzphänomens bereits ausgeführt worden.

An und in den Zellen der Chorioallantoismembran sollte die Interferenz zwischen den Influenza-Viren Sendai (Typ D) und Shope (Typ Swine) durch Infektiositätstitrationen erfaßt werden. Voraussetzung war eine genaue Bestimmung der Vermehrungszyklen für beide Virusarten. Da sich die erforderlichen Entnahmezeiten nicht genau genug festlegen ließen, waren die ermittelten Versuchsergebnisse nur unbefriedigend. Es wurde daher von Interferenzversuchen auf der Basis der Infektiosität abgesehen und die Hämagglutination als meßbare Eigenschaft genutzt. Interferenzversuche auf Grund von Hämagglutinationstitrationen auszuführen, ist insofern möglich, als Viruskonzentration und Hämagglutiningehalt sich praktisch entsprechen. Nach Horsfall (1952) ist die Viruskonzentration dem Hämagglutinationstiter direkt proportional, doch ist der Betrag an infektiösem Virus nicht direkt dem Hämagglutiningehalt gleich (Freymann u.a., 1950–51). Auch

muß an das Vorhandensein inkompletter Viren gedacht werden (Cairns und Edney, 1952; Henle und Henle, 1944, a; von Magnus, 1954; Dulbecco, 1955; Fazekas de St. Groth und Graham, 1954). Eine Beeinträchtigung des Hämagglutinationstiters durch nicht-infektiöses Hämagglutinin brauchte aber bei den Interferenzversuchen nicht berücksichtigt zu werden, da alle Versuche in gleicher Weise ausgeführt wurden. Auch wird das Hämagglutinationsvermögen von inkomplettem Virus durch Formalin nicht verändert (von Magnus, 1951, c).

Durch einen Inhibitor, der sich in normaler Allantoisflüssigkeit befindet, kann die Influenzavirushämagglutination eine weitere Veränderung erfahren (Isaacs und Edney, 1950, b, c; Svedmyr, 1947, 1948, a). Gewöhnliche Allantoisflüssigkeit enthält den Inhibitionsfaktor in größerer Menge als es bei Allantoisflüssigkeiten mit hohem Virusgehalt der Fall ist (Svedmyr, 1947). In den dieser Arbeit zugrundeliegenden Interferenzversuchen wurde der Hämagglutinationsinhibitor in seiner Beeinträchtigung der Titrationswerte vernachlässigt. Der Inhibitoreinfluß nimmt in der mit Influenzavirus infizierten Allantoisflüssigkeit in dem Maße ab, wie der Virusgehalt der Flüssigkeit ansteigt (Svedmyr, 1948, a). Die Virusvermehrung im Hühnerembryo wird durch den Inhibitor nicht verändert (Svedmyr, 1948, b). Auf die im „entembryonierten" Brutei ausgeführten Interferenzversuche hatte der Hämagglutinationsinhibitor keinen Einfluß, da jedes Ei vor der Beschickung mit virushaltiger Tyrodelösung mehrmals mit physiologischer Kochsalzlösung ausgewaschen und dadurch der Inhibitor entfernt wurde (Isaacs und Edney, 1950, b, c).

Alle in den „entembryonierten" Eiern ausgeführten Interferenzversuche wurden so angelegt, daß das zuerst in die Eier gegebene Virus – sei es aktiv oder durch Formalin inaktiviert – im Überschuß vorhanden war. Die virushaltigen Flüssigkeiten wurden visuell auf einen Hämagglutinationstiter von 1:640 eingestellt. Entsprechend der angewandten Titrationsmethode konnte dieser Wert auch höher sein, da visuell die nächste Hämagglutinationsstufe bei 1:1280 liegt. Diese mögliche Fehlerquelle blieb unberücksichtigt, da alle Hämagglutinationstitereinstellungen in gleicher Weise erfolgten und außerdem durch photometrische Titrationsmessungen kontrolliert wurden.

Im folgenden werden die Ergebnisse der 10 Interferenzversuche zwischen den Influenza-Viren Asia (Typ A_2) und PR 8 (Typ A) vergleichend betrachtet, welche in der Übersichtstabelle 23 zusammengefaßt sind.

Um die Übersicht zu erleichtern, ist in der Tabelle 19 angegeben, wie sich das vorangehende Virus gegenüber dem nachfolgenden Virus verhält. Dabei zeigt sich, daß das zuerst gegebene Virus nicht immer das interferierende und das nachfolgende Virus nicht immer das challenge-Virus ist. Alle Angaben beziehen sich auf die festgestellte Hemmung bzw. Unterdrückung der in der Hämagglutininmenge gemessenen Virusvermehrung. Hierbei ergeben sich Grade der Unterdrückung der Vermehrung: stark oder schwach. In einigen Fällen ist eine Zeitangabe notwendig gewesen, weil sich nach dieser Zeit das Versuchsergebnis im Verhältnis zur Kontrolle änderte. In Versuch 1 sinkt z. B. nach 375 Min. das dem PR 8-Virus nachgegebene Asia-Virus in der Menge ab, während es in dem Kontrollansatz nach 375 Min. noch weiter zunimmt.

Über Versuche, in denen ein inaktiviertes Virus vor- oder nachgegeben wurde, können in der Tabelle keine Angaben gemacht werden.

Tabelle 19

Übersicht über die Ergebnisse der 10 Interferenzversuche

Interferenzversuch zwischen	vorangehendes Virus	nachfolgendes Virus
1. PR8 aktiv und Asia aktiv	stark unterdrückt	nicht unterdrückt bis 375 Min. nach Versuchsbeginn
2. Asia aktiv und PR8 aktiv	stark unterdrückt	nicht unterdrückt bis 350 Min nach Versuchsbeginn
3. PR8 aktiv und Asia inaktiv	schwach unterdrückt	
4. Asia inaktiv und PR8 aktiv	nicht verwertbar	nicht unterdrückt
5. PR8 inaktiv und Asia aktiv		nicht unterdrückt bis 375 Min. nach Versuchsbeginn
6. Asia aktiv und PR8 inaktiv	stark unterdrückt	
7. PR8 aktiv und PR8 inaktiv	nicht unterdrückt	
8. PR8 inaktiv und PR8 aktiv		nicht unterdrückt bis 300 Min. nach Versuchsbeginn
9. Asia aktiv und Asia inaktiv	stark unterdrückt	
10. Asia inaktiv und Asia aktiv	nicht verwertbar	nicht unterdrückt bis 350 Min. nach Versuchsbeginn

In Versuch 4 und 10 mußte vermerkt werden „nicht verwertbar", weil der Kontrollversuch keinen verwertbaren Vergleich gestattet.

Die Versuche 1–10 unterscheiden sich in dem Virusstamm, Influenza-Virus PR8 oder Asia, und weiterhin darin, ob der Virusstamm aktiv (vermehrungsfähig) oder inaktiv (nicht vermehrungsfähig) war.

Die 10 Versuche erfüllen alle Kombinationen zwischen den genannten Virusstämmen und den Zuständen derselben. In bezug auf die Viruskonzentrationen (visuell eingestellt) besteht kein Unterschied unter den vorangehenden (Titer stets 1:640) und unter den nachfolgenden (Titer stets 1:160) Viren.

In den unter Nummer 1, 3 und 7 beschriebenen Versuchen wurde jeweils aktives PR8-Virus vorgegeben. 50 Min. später wurde den gleichen Zellen aktives Asia-Virus (Versuch 1), inaktives Asia-Virus (Versuch 3) bzw. inaktives PR8-Virus (Versuch 7) angeboten.

Versuch 1 zeigt deutlich, daß die Vermehrung von PR8-Viren stark unterdrückt wurde, während die von Asia-Virus bis zum Zeitpunkt von 375 Min. nach Versuchsbeginn unbeeinflußt blieb. Diese Versuchsergebnisse stimmen nicht mit denen von Ziegler und Horsfall (1944), Henle (1953, b) sowie Burnet und Lind (1954) überein, welche fanden, daß die dominante infektiöse Rolle von demjenigen Virus eingenommen wird, welches zuerst die Zellen der Chorioallantoismembran erreicht (vgl. Sinkovics, 1956).

Aus Versuch 3 geht hervor, daß inaktiviertes Asia-Virus auf die Vermehrung aktiver PR8-Viren schwach hemmend wirkt, während sich aktives und inaktiviertes PR8-Virus (Versuch 7) gegenseitig nicht beeinflussen.

In den unter Nummer 2, 6 und 9 beschriebenen Versuchen wurde jeweils aktives Asia-Virus vorgegeben. 50 Min. später wurde den gleichen Zellen aktives PR8-Virus (Versuch 2), inaktives PR8-Virus (Versuch 6) bzw. inaktives Asia-Virus (Versuch 9) angeboten.

Erfolgt die Zellinfektion durch aktive Asia-Viren und zeitlich später durch aktives PR8 (Versuch 2), ergeben sich die gleichen Resultate wie in Versuch 1. Auch diese Ergebnisse stehen im Gegensatz zu denen von Ziegler und Horsfall (1944), Henle (1953, b) sowie Burnet und Lind (1954).

In den Versuchen 6 und 9 war die Infektion der Zellen der Chorioallantoismembran durch aktive Asia-Viren von inaktivierten PR8- bzw. inaktivierten Asia-Viren gefolgt. Hierdurch wird die Vermehrung aktiver Asia-Viren gehemmt, und zwar durch homologes Virus weit stärker (Versuch 9) als durch heterologes (Versuch 6).

Vergleicht man aktive und inaktive Asia- und PR8-Viren in homologen Interferenzversuchen (Versuche 7 und 9), fällt das unterschiedliche Verhalten beider Virusarten auf. Während inaktives Asia-Virus den Vermehrungsablauf aktiver Asia-Viren stark drosselt, beeinflussen sich PR8-Viren gegenseitig nicht. Das steht in gewissem Gegensatz zu Aussagen von Schlesinger (1959) und Henle (1953, a), welche eine Hemmung des aktiven Virus durch homologes inaktiviertes Virus beobachteten (vgl. Henle, 1949, b; Henle, Henle und Rosenberg, 1947; Henle und Henle, 1949).

Homologe Interferenz zwischen vorgegebenem inaktivem PR8 und nachfolgendem aktivem Virus (Versuch 8) beeinflußt die Virusneubildung nicht. Für den Interferenzversuch zwischen inaktivem und aktiven Asia-Viren (Versuch 10) lassen sich wegen des nicht verwertbaren Kontrollversuchs keine sicheren Aussagen machen. Nachfolgendes Asia-Virus vermehrte sich bis zum Zeitpunkt von 350 Min. nach Versuchsbeginn.

Der heterologe Interferenzversuch zwischen inaktiven Asia- und aktiven PR8-Viren kann gleichfalls nicht genau beurteilt werden (Versuch 4), wenn auch die Vermehrung nachfolgender PR8-Viren nicht unterdrückt wurde. Ebenso hat der Interferenzversuch zwischen inaktivem PR8- und aktivem Asia-Virus (Versuch 5) gezeigt, daß keine störende Beeinflussung stattgefunden hat.

Zusammenfassung

Die vorliegende Arbeit ist ein experimenteller Beitrag zur Interferenz von Influenzaviren. Aus den Influenzaviren wurden durch Voruntersuchungen die Stämme PR8 (Typ A) und A/2/Sing/1/57 (Typ A_2) als geeignet für die Versuchsreihen ausgewählt. Die Chorioallantoismembran des entembryonierten Hühnereies diente als Nährboden. Ein Abfall bzw. Anstieg der Viruskonzentrationen wurde durch visuelle und photometrische Hämagglutininbestimmungen festgestellt und graphisch aufgezeichnet. Den Interferenzversuchen wurden zahlreiche Kontrollversuche vorangestellt, aus denen die Stärke der Virushemmung bzw. Vermehrung ersehen werden konnte. Es wurde gefunden:

1. Interferenz zwischen aktiven PR8- und Asia-Viren (und umgekehrt) führt immer zu einer starken Unterdrückung des vorangehenden Virus.
2. Interferenz zwischen aktiven PR8-Viren und nachfolgenden inaktiven Asia-Viren führt zu einer schwachen Unterdrückung des vorangehenden Virus.

3. Aktive Asia-Viren werden durch nachfolgendes inaktives PR 8-Virus stark unterdrückt.
4. Nachfolgendes aktives PR 8-Virus wird durch vorangehendes inaktives Asia-Virus in seiner Entwicklung nicht beeinflußt.
5. Nachfolgendes aktives Asia-Virus wird durch vorangehendes inaktives PR 8-Virus bis zu 375 Minuten nach Versuchsbeginn in seiner Entwicklung nicht beeinflußt.
6. Vorangehendes aktives PR 8-Virus wird durch nachfolgendes inaktives PR 8-Virus nicht unterdrückt.
7. Vorangehendes aktives Asia-Virus wird durch nachfolgendes inaktives Asia-Virus stark unterdrückt.
8. Inaktives PR 8-Virus beeinflußt die Vermehrung nachfolgenden aktiven PR 8-Virus bis zu 300 Min. nach Versuchsbeginn nicht.
9. Inaktives Asia-Virus beeinflußt die Vermehrung nachfolgenden aktiven Asia-Virus bis zu 350 Min. nach Versuchsbeginn nicht.

Summary

Experimental Contribution on the Interference of Influenza Viruses

W. Sinz

This paper represents an experimental contribution on the interference of influenza viruses. In a preliminary study, the following strains of influenza viruses were selected for their suitability for the experimental series: Strains PR 8 (Type A) and Asia/Sing II/1/57 (Type A_2). The chorio-allantois membrane of the de-embryonized chicken egg served as nutrient medium. A decrease or increase in virus concentration was determined by visual and photometric hemagglutination estimations and was graphically recorded. The interference experiments were preceded by numerous control experiments, which revealed the power of the virus inhibition or propagation.

The following interference experiments were carried out between the above influenza virus strains:

Interference between active PR 8 and Asia viruses in 2 experiments;

Interference between active PR 8 and inactive Asia viruses (and vice versa) in 4 experiments;

Interference between active and inactive PR 8 viruses in 2 experiments;

Interference between active and inactive Asia viruses in 2 experiments.

The interference experiments could not substantiate the statements on interference phenomena by Ziegler and Horsfall (1944), Henle (1953 (b)), as well as Burnet and Lind (1954), instead, they led to other results:

1. Interference between active PR 8 and Asia viruses (and vice versa) always leads to a strong inhibition of the preceding virus.
2. Interference between active PR 8 viruses and following inactive Asia viruses leads to a slight inhibition of the preceding virus.
3. Active Asia viruses are strongly inhibited by following inactive PR 8 viruses.
4. The development of following active PR 8 virus is not inhibited by preceding inactive Asia virus.
5. Up to 375 minutes after the beginning of the experiment, the development of following active Asia virus is not influenced by preceding inactive PR 8 virus.
6. Preceding active PR 8 virus is not inhibited by following inactive PR 8 virus.
7. Preceding active Asia virus is strongly inhibited by following inactive Asia virus.
8. Up to 300 minutes after the beginning of the experiment, inactive PR 8 virus has no influence on the propagation of subsequent active PR 8 virus.
9. Up to 350 minutes after the beginning of the experiment, inactive Asia virus has no influence on the propagation of subsequent active Asia virus.

Résumé

Contribution expérimentale à l'interférence des virus de la grippe

W. Sinz

Le présent travail est une contribution expérimentale à l'interférence des virus de la grippe. Parmi les virus de la grippe on a sélectionné par des essais préliminaires les souches

PR 8 (type A) et Asia/Sing II/1/57 (type A_2) comme convenables aux présentes expériences en série. La membrane chorioallantoidienne de l'oeuf de poule désembryonnée servait comme milieu nutritif. L'augmentation de la concentration virale a été marquée et graphiquement enregistrée par des déterminations visuelles et photométriques de l'hémagglutinine. De nombreuses expériences de contrôle précédaient les essais d'interférence, les contrôles permettant de déterminer l'importance de l'inhibition resp. de la multiplication virale.

Les essais d'interférence suivants ont été réalisés entre les souches virales de la grippe mentionnées:

Interférence entre des virus PR 8 actifs et des virus Asia en deux essais;

Interférence entre des virus PR 8 actifs et des virus Asia inactifs (et inversément) en 4 essais;

Interférence entre des virus PR 8 actifs et inactifs en 2 essais;

Interférence entre des virus Asia actifs et inactifs en 2 essais.

Les essais d'interférence n'ont pas pu comfirmer les indications de Ziegler et Horsfall (1944), Henle (1953, b) ainsi que Burnet et Lind (1954) sur les phénomènes d'interférence, mais ont conduit à d'autres résultats:

1. L'interférence entre des virus PR 8 actifs et des virus Asia (et inversément) conduit toujours à une inhibition importante du virus précédant.
2. L'interférence entre des virus PR 8 actifs et des virus Asia inactivés suivants conduit à une inhibition faible du virus précédant.
3. Des virus Asia actifs sont inhibés par des virus PR 8 inactivés suivants.
4. Le virus PR 8 actif suivant n'est pas influencé dans son développement par un virus Asia inactivé précédant.
5. Le virus Asia actif suivant n'est pas influencé dans son développement par un virus PR 8 inactif précédant pendant und durée allant jusqu'à 375 minutes après le début de l'expérience.
6. Le virus PR 8 actif précédant n'est pas inhibé par un virus PR 8 inactivé précédant.
7. Un virus Asia actif précédant est fortement inhibé par un virus Asia inactivé suivant.
8. Un virus PR 8 inactivé n'influence pas la multiplication du virus PR 8 actif suivant pendant 300 minutes après le début de l'expérience.
9. Un virus Asia inactivé n'influence pas la multiplication d'un virus Asia actif suivant pendant 350 minutes après le début de l'expérience.

Resumen

Contribución experimental sobre la interferencia de los virus de la influenza

W. Sinz

El presente trabajo es una aportación experimental sobre la interferencia de los virus gripales. De entre los virus de la influenza fueron separadas, por medio de pruebas preliminares, las cepas PR 8 (tipo A) y Asia / Sing II/1/57 (tipo A_1) como apropiadas para la realización de la experiencia. Como medio de cultivo se empleó la membrana corioalantoidea de huevos de gallina desembrionados. El aumento o descenso de la concentración de virus fué comprobado y registrado graficamente a través de determinaciones visuales y fotométricas de las hemoaglutininas. Numerosas pruebas de control precedieron a las experiencias. De ellas se pudo deducir la intensidad de la inhibición así como de la reproducción de los virus.

Entre las mencionadas cepas de virus de la influenza se llevaron a cabo las siguientes pruegas de interferencia:

Interferencia entre virus PR 8 activos y Asia, en dos pruebas. Interferencia entre PR 8 activos y Asia inactivos (y a la inversa) en cuatro pruebas.

Interferencia entre PR 8 activos e inactivos, en dos pruebas. Interferencia entre virus Asia activos e inactivos, en dos pruebas.

Las experiencias llevadas a cabo no pudieron confirmar los resultados de Ziegler y Horsfall (1944), Henle (1953, b) así como de Burnet y Lind (1954) sobre los fenómenos de interferencia, sino que nos llevaron a resultados distintos:

1. La interferencia entre el virus PR 8 activo y el Asia condujo siempre a una inhibición intensa del primero.
2. La interferencia entre el virus PR 8 activo y el subsiguiente Asia inactivo condujo a una inhibición debil del primero.
3. Los virus Asia activos son inhibidos intensamente por los subsiguientes PR 8 inactivos.

4. Los virus Asia inactivos no influyeron en el desarrollo de los PR 8 activos subsiguientes.
5. Hasta 375 minutos después del comienzo de la prueba los virus PR 8 inactivos no influyeron en el desarrollo de los Asia activos subsiguientes.
6. Virus PR 8 activos previos no son inhibidos por los PR 8 inactivos subsiguientes.
7. El virus Asia activo previo es inhibido intensamente por el Asia inactivo subsiguiente.
8. Hasta 300 minutos después del comienzo de la prueba, el virus PR 8 inactivo no influye en la reproducción del PR 8 activo subsiguiente.
9. Hasta 350 minutos después del comienzo de la prueba, el virus Asia inactivo no influye en la reproducción del Asia activo subsiguiente.

Dr. Waltrun Sinz, 1 Berlin 37, Goethestraße 32

INTERFERENZ ZWISCHEN INFLUENZAVIRUS-STÄMMEN

(Schrifttum zur Arbeit "Experimenteller Beitrag zur Interferenz von Influenzaviren")

Zbl. Bakt. I Orig. (im Druck)

WALTRUN SINZ

In der Virologie wird ein Vorgang, bei dem das Wachstum eines Virus durch ein anderes gehemmt oder unterdrückt wird (ZIEGLER u. HORSFALL, 1944; MULLER, 1946; LENNETTE, 1951; SCHLESINGER, 1952, 1959; SCHAFER, 1958) als Interferenz bezeichnet. Definitionsgemäss wird dabei dasjenige Virus, dessen Vermehrung verhindert wird, als "challenge-Virus" bezeichnet. Das "interferierende Virus" löst diesen Vorgang aus (SCHÄFER, 1958).

Man unterscheidet die Begriffe der homologen und der heterologen Interferenz. Die homologe Interferenz ist dadurch gekennzeichnet, dass interferierendes und "challenge"-Virus identisch oder zumindest serologisch verwandt sind (HENLE, 1950; SCHÄFER, 1958). Im anderen Falle handelt es sich um eine heterologe Interferenz (DULBECCO, 1955; SCHÄFER, 1958).

Neben diesen beiden Arten der Interferenz kennt die Virologie die Erscheinung der reziproken Interferenz (ZIEGLER u. HORSFALL, 1944; HENLE, 1950). Hierbei interferieren 2 verschiedene Virusarten auch dann noch miteinander, wenn es gleichgültig ist, in welcher Reihenfolge beide Virusarten die Zellen der Chorioallantoismembran, d.h. der Wirtszelle, erreichen (ZIEGLER u. HORSFALL, 1944).

Für Interferenzversuche zwischen Influenzaviren haben sich der lebende Hühnerembryo (HORSFALL, 1952) und Gewebekulturen von Hühnerembryonen als besonders günstig erwiesen. In diesem Zusammenhang ist auf die vorteilhafte Arbeitsmethode mit dem entembryonierten Brutei hinzuweisen (BERNKOPF, 1949; BURNET u. LIND, 1954; FINTER u.a., 1954; SPRÖSSIG, 1958).

Welche Möglichkeiten stehen zum Nachweis der Interferenz zur Verfügung?

Das interferierende Virus kann sich durch verschiedene Eigenschaften vom "challenge"-Virus unterscheiden. Angenommen, das interferierende Virus ist stärker pathogen, so ruft es in dem Wirt deutlichere Zellschäden hervor als es für das "challenge"-Virus zutreffen würde. Das Ausmass dieser Destruktion gestattet Rückschlüsse auf die Interferenz (HENLE, 1950; DULBECCO, 1955).

Weiterhin lässt sich eine gegenseitige Beeinflussung zwischen den Virusstämmen durch spezifische Antiseren erfassen (HENLE, 1950; ZIEGLER u. HORSFALL, 1944; HENLE u. HENLE, 1945 (b), 1949) oder durch Anlegen mehrerer Passagen im Hühnerembryo (ZIEGLER u. HORSFALL, 1944; HENLE, 1950).

Das unterschiedliche Verhalten der Hämagglutinationstiter gibt über den Grad der Interferenz nur indirekt Auskunft. Niedrige Titrationswerte weisen darauf hin, dass sich das betreffende Virus nicht in dem Ausmass vermehren konnte, um entsprechende Hämagglutininbeträge zu liefern (HENLE u. HENLE, 1944 (b); HENLE, HENLE u. KIRBER, 1947; HENLE, 1950; FREYMANN, TAMM u. GREEN, 1950-1951, von MAGNUS, 1951 (c)). Der negative Ausfall eines Hämagglutinin-Nachweises besagt aber nicht, dass keine Virusvermehrung stattgefunden hat (ZIEGLER u. HORSFALL, 1944).

Die Entwicklung der Virusteilchen, die bei der Interferenz gestört ist, lässt sich in 4 Phasen einteilen (HENLE, HENLE u. ROSENBERG, 1947; HENLE, 1949 (a), 1953 (b); ISAACS u. EDNEY, 1950 (c); CAIRNS u. MASON, 1953; BURNET, 1955):

1. Kontakt und Adsorption des Virus an die Wirtszelle
2. Aufnahme des Virus in die Wirtszelle
3. Reproduktion und Vermehrung des Virus in der Wirtszelle
4. Freisetzen des neugebildeten Virus aus der Wirtszelle

Die Möglichkeit einer Störung durch Interferenz könnte in den Phasen 1 und 2, aber auch in 3 liegen.

Die zeitliche Dauer des Interferenzablaufes wird verschieden angegeben. FAZEKAS de St. GROTH, ISAACS u. EDNEY (1952) nehmen auf Grund ihrer Versuchsergebnisse eine längere Zeit an als HENLE u. HENLE (1945 (a)). Wie HENLE u. PAUCKER (1958) zeigen konnten, nimmt die für den Interferenzablauf benötigte Zeit mit der Grösse der interferierenden Dosis ab.

Es wird angenommen, dass sich das Phänomen der Interferenz schon innerhalb der ersten Minute nach der Infektion anbahnt (HENLE, HENLE u. KIRBER, 1947). Die Dauer des Interferenzzustandes hängt von der Art der Verbindung zwischen Virus und Wirtszelle ab. Experimentell liess sich eine Interferenz zwischen Viren 6 Tage lang nachweisen (HENLE, HENLE u. KIRBER, 1947; HENLE, 1950; SINKOVICS, 1956).

Das interferierende Virus kann mit dem "challenge" Virus gemeinsam, vor oder nach ihm den Zellen angeboten werden (LENNETTE, 1951; HENLE, 1953 (b)). Geht das interferierende Virus voraus, so muss es gegenüber dem "challenge"-Virus im Vorteil sein und genügend Zeit zu seiner Vermehrung haben (LENNETTE, 1951; HENLE, 1953 (b); SCHLESINGER, 1952). Wird es dagegen später an die Zellen der Chorioallantoismembran herangebracht, ist seine Konzentration gross genug zu wählen. Das Intervall zwischen beiden Injektionen muss klein gehalten werden (HENLE, 1950; LENNETTE, 1951).

Interferenzversuche zwischen aktiven Influenza A- und Influenza B-Viren können die Erscheinung der reziproken Interferenz geben. ZIEGLER u. HORSFALL (1944) wiesen nach, dass die Infektion des Hühnerembryos mit PR 8 - oder Lee-Viren zu reziproker Interferenz zwischen beiden Virusarten führt. PR 8 und Lee zeigten dabei hinsichtlich der für das Versuchsgelingen notwendigen Viruskonzentrationen gewisse Unterschiede. Aus den Versuchen der erwähnten Arbeit geht hervor, dass die dominante infektiöse Rolle bei reziproker Interferenz von dem Virus eingenommen wird, das zuerst die Allantoiszellen erreicht (ZIEGLER u. HORSFALL, 1944; HENLE, 1953 (b)). Infizieren interferierendes und "challenge"-Virus in geringer Menge gleichzeitig die Wirtszellen, können sich beide Viren neben-

einander vermehren (HENLE, 1950; ZIEGLER u. HORSFALL, 1944). Demnach hängen Richtung und Wirksamkeit der Interferenz von Zeit und Dosierung ab. Stets muss das eine Virus dem anderen gegenüber im Vorteil sein. Das gilt auch für Interferenzversuche in der Gewebekultur (ANDREWES, 1942).

Über die Interferenz zwischen vermehrungsfähigen und durch UV- (SALK, LAVIN u. FRANCIS, 1940; ZIEGLER, LAVIN u. HORSFALL, 1944; HENLE u. HENLE, 1944 (b), 1947; HENLE, HENLE u. ROSENBERG, 1947; HENLE u. PAUCKER, 1958), hitze- (ISAACS u. EDNEY, 1950 (a); FAZEKAS de ST. GROTH u. EDNEY, 1952; FAZEKAS de ST. GROTH, ISAACS u. EDNEY, 1952) oder Formaldehyd-inaktivierten Viren (ISAACS u. EDNEY, 1950 (a); von MAGNUS, 1951 (c); McLEAN u. a., 1945; SPRÖSSIG, 1958; SVEDMYR, 1948 (b); HENLE, 1953 (b)) ist unter anderem Folgendes bekannt:

Durch die Inaktivierung verlieren die Viren die Infektiosität und damit die Vermehrungsfähigkeit (GROUPÉ u. PUGH, 1950; ISAACS u. EDNEY, 1950 (c); HENLE, 1950; HENLE u. HENLE, 1947; HIRST, 1942, LENNETTE, 1951). Innerhalb gewisser Grenzen bleibt ihre Hämagglutinationsfähigkeit erhalten (HIRST, 1942; HENLE u. HENLE, 1947). Wie aktives Virus werden sie an Hühnererythrozyten adsorbiert, von diesen wieder eluiert (HENLE, 1950; HIRST, 1942; HENLE, G. u. HENLE, W., 1945 (b); ISAACS u. EDNEY, 1950 (a)) und durch spezifische homologe Immunseren neutralisiert (HENLE, 1950; HENLE, G. u. HENLE, W., 1945 (b)).

Inaktiviertes Virus wird an die Zellen der Chorioallantoismembran adsorbiert (HOYLE, 1950) und entzieht sich in diesen dem Nachweis, wie es für aktive Influenzaviren bekannt ist (ISAACS u. EDNEY, 1950 (c)).

Das inaktivierte Virus besitzt die Fähigkeit zur Interferenz, indem es die Vermehrung aktiver Virusteilchen hemmt (HENLE, 1950; HENLE u. HENLE, 1944 (a); FAZEKAS de ST. GROTH, ISAACS u. EDNEY, 1952; von MAGNUS, 1947; DULBECCO, 1955).

Untersuchungen haben ergeben, dass dieser Hemmungseffekt des durch UV-Bestrahlung inaktivierten Virus typenspezifisch, nicht stammspezifisch ist (HENLE u. ROSENBERG, 1949). Auch die Zellen der Allantoishöhle werden durch das UV-inaktivierte, interferierende Virus beeinflusst. Das Wachstum der Zellen der Chorioallantoismembran wird stark verzögert, der Embryo entwickelt sich langsamer (HENLE, 1949 (a), 1950; HENLE, HENLE und KIRBER, 1947). Mit verlängerter Bestrahlungszeit lässt die Wachstumshemmung wieder nach (HENLE, HENLE und KIRBER, 1947).

Eingehendere Beobachtungen, die nach Inaktivierung des Influenzavirus durch UV-Bestrahlung gemacht wurden, konnten die Erscheinung der Autointerferenz aufzeigen und auch weitgehend klären. Zu intensive UV-Bestrahlung virushaltiger Allantoisflüssigkeiten hat einen zunehmenden Verlust der Interferenzfähigkeit zur Folge (HENLE, 1950; ZIEGLER, LAVIN und HORSFALL, 1944; HENLE und HENLE, 1944 (b), 1947). Das Hämagglutinationsvermögen bleibt dagegen zunächst noch erhalten (HENLE u. HENLE, 1945 (a)), bis es schliesslich durch verstärkte UV-Anwendung auch zerstört wird (HENLE, 1950; ZIEGLER, LAVIN u. HORSFALL, 1944; HENLE und HENLE, 1947). Bei zu kurzer Bestrahlungszeit erfolgt die Inaktivierung der Virus-Suspension nur unvollkommen (HENLE, 1950; HENLE und HENLE, 1947); doch können solche Präparationen genügend inaktiviertes Virus enthalten, um mit dem restlichen aktiven Virus in dieser Suspen-

sion zu interferieren. Diese als Autointerferenz (HENLE, 1950) bezeichnete Erscheinung lässt sich in den Allantoismembranen des Hühnerembryos nur nachweisen, wenn hohe Konzentrationen an inaktiviertem Virus vorliegen (HENLE, 1953 (b)); die Infektion der Allantoiszellen gelingt dagegen mit einer nur kleinen Anzahl aktiver Virusteilchen (HENLE, 1950).

Wird das inaktivierte interferierende Virus in stärkerer Verdünnung in die Allantoishöhle injiziert, tritt die Erscheinung der Autointerferenz nicht auf (HENLE, 1950; ZIEGLER, LAVIN und HORSFALL, 1944; ISAACS und FULTON, 1953), da sich das inaktivierte Virus gegenüber dem aktiven - beide Virusarten sind in der gleichen Allantoisflüssigkeit vorhanden - im Nachteil befindet (GROUPÉ und PUGH, 1950; HENLE, 1953 (b)).

Aus Versuchen mit Influenzaviren geht hervor, dass hohe, in die Allantoishöhle gegebene Viruskonzentrationen meist in niedrigem Hämagglutinationstiter der Allantoisflüssigkeiten resultieren (CAIRNS und EDNEY, 1952; HENLE und HENLE, 1944 (a)), während niedrige Konzentrationen des verimpften Virus zur Bildung von hohem Virusgehalt in den Allantoisflüssigkeiten führen (HENLE und HENLE, 1944 (a)). Dieses unterschiedliche Verhalten wird mit der Bildung von inkomplettem Virus erklärt (CAIRNS und EDNEY, 1952).

Da inkomplettes Virus, welches auch als nicht-infektiöses Hämagglutinin bezeichnet wird (von MAGNUS, 1952; SCHLESINGER, 1959), künstlich nach Hitze- oder UV-Inaktivierung auftritt oder von vornherein in der virushaltigen Allantoisflüssigkeit vorhanden ist (HENLE und HENLE, 1944 (a); von MAGNUS, 1954; DULBECCO, 1955), scheint die Interferenz dieses inkompletten Virus mit den in der gleichen Flüssigkeit vorhandenen aktiven Viruspartikeln mit dem Phänomen der Autointerferenz identisch zu sein (HENLE und HENLE, 1944 (a); SCHLESINGER, 1952). Von MAGNUS (1951 (a, b), 1952) deutet die Bildung inkompletter Viren als ein Zeichen der Autointerferenz.

Zwischen aktiven, also vermehrungsfähigen, und inaktivierten Influenzaviren lassen sich homologe und heterologe Interferenzvorgänge nachweisen. Dabei ist zu beachten, dass durch UV-Bestrahlung inaktiviertes Virus stärkere interferierende Eigenschaften entfaltet als durch Hitze inaktiviertes Virus (ISAACS und FULTON, 1953; DULBECCO, 1955).

Dennoch haben FAZEKAS de ST. GROTH und EDNEY (1952) nachgewiesen, dass pro Zelle nur ein hitzeinaktiviertes Virusteilchen erforderlich ist, um die Vermehrung des aktiven heterologen Virus, das 24 Std. später eingebracht wird, in dieser Zelle auszuschalten. Voraussetzung ist unmittelbarer Kontakt der Allantoiszellen mit dem inaktivierten interferierenden Virus (HENLE, 1950). Dabei schwankt die Adsorptionsmenge des UV-inaktivierten Virus zwischen 30 und 90% des Inokulums und nimmt mit ansteigend grösseren Injektionsmengen ab (HENLE, HENLE und KIRBER, 1947).

Die Virusadsorption an die Allantoiszellen hängt nicht von der Interferenzkraft des Virus ab, sondern erlischt in dem Augenblick, da das Virus seine Hämagglutinationsfähigkeit verliert. Hieraus ergibt sich eine weitgehende Abhängigkeit der Interferenz von der Anzahl der interferierenden inaktivierten Teilchen. Je grösser die Zahl der adsorbierten bestrahlten Teilchen pro Zelle ist, um so intensiver wird jede Zelle vor der Infektion durch aktives Virus geschützt (HENLE und PAUCKER, 1958). Für das Auftreten der Interferenz ist die Menge an "challenge"-Virus weniger von Bedeutung (FA-

ZEKAS de ST. GROTH und EDNEY, 1952), wenn es nach dem inaktivierten interferierenden Virus gegeben wird (HENLE, 1950).

Kann das interferierende Virus die empfänglichen Zellen der Chorioallantoismembran, von denen es sofort aufgenommen wird (ISAACS u. LINDENMANN, 1957), schnell erreichen, wird die Interferenz innerhalb kurzer Zeit eingeleitet (HENLE, 1950), benötigt aber bis zu ihrer vollständigen Entwicklung mehrere Stunden (HENLE, 1950; ISAACS u. LINDENMANN, 1957; HENLE u. PAUCKER, 1958). Während dieser Zeit nimmt der Betrag an neu gebildetem Virus in den Zellen, die am Interferenzablauf teilnehmen, immer mehr ab, bis schliesslich keine neuen Virusteilchen entstehen (HENLE und PAUCKER, 1958).

Interferenzversuche lassen sich ausführen, wenn das inaktivierte interferierende Virus gemeinsam mit dem "challenge"-Virus, zeitlich vor oder auch nach ihm gegeben wird (HENLE, 1950, 1953 (b)).

Setzt man Allantoiszellen gleichzeitig einer Infektion durch UV-inaktiviertes und homologes aktives Virus aus, muss das inaktivierte interferierende Virus das "challenge"-Virus in seiner Konzentration weit übertreffen, wenn die Vermehrung aktiver Virusteilchen in den Zellen der Allantoismembran ganz aufgehoben werden soll (HENLE, 1950, 1953 (b); ZIEGLER, LAVIN und HORSFALL, 1944; DULBECCO, 1955).

Dagegen werden die Allantoiszellen bei gleichzeitiger Beimpfung mit inaktiviertem interferierendem und "challenge"-Virus vor einer Infektion nicht geschützt, wenn es sich um heterologe Viren handelt. Da jedoch die Vermehrungsfähigkeit des infektiösen Virus eingeschränkt wird, muss angenommen werden, dass das Interferenzphänomen aufgetreten ist. 9 und 24 Std. nach der Infektion liess sich keine Zunahme an infektiösem Virus beobachten (HENLE und PAUCKER, 1958).

Allantoiszellen, an die inaktiviertes Virus adsorbiert ist und die zeitlich später mit aktivem homologem "challenge"-Virus in Berührung kommen, das zusätzlich unvermindert adsorbiert werden kann (ISAACS u. EDNEY, 1950 (b)), unterstützen die Virusvermehrung (HENLE u. PAUCKER, 1958). Zwischen beiden Injektionen war ein Intervall von nur 2 Std. gewählt worden, was für eine vollständige Interferenzentwicklung nicht ausreicht (HENLE, 1950; PAUCKER und HENLE, 1958).

Im Gegensatz zu den eben angeführten Beobachtungen stehen die Versuchsergebnisse von HENLE und HENLE (1944 (a)): Beimpfung der Hühnerembryonen mit inaktiviertem und anschliessend mit aktivem Virus resultiert in Allantoisflüssigkeiten ohne messbare Hämagglutinationstiter.

Gleiche Resultate erhielten ZIEGLER, LAVIN und HORSFALL (1944) mit heterologer und homologer Interferenz sowie ISAACS und EDNEY (1950, 1951), wenn mit nicht-infektiösem Virus in hohen Konzentrationen gearbeitet wurde.

In allen Versuchsbeispielen hat das inaktivierte interferierende Virus die Vermehrung des aktiven Virus unterdrückt. Selbst durch hohe Konzentrationen an aktivem Virus, das 14 - 18 Std. nach dem inaktivierten interferierenden Virus gegeben wird, lässt sich der Interferenzablauf nicht rückgängig machen (HENLE und HENLE, 1944 (b)).

Das bestrahlte Virus hindert das aktive am Eintritt in die Zelle und damit an der Vermehrung. Auch in Membran-Suspensionen kann es nicht

nachgewiesen werden. Beträgt dagegen die Zeitspanne zwischen beiden Injektionen nur 1 Std., bleibt die Interferenzentwicklung aus (ISAACS und EDNEY, 1951 (a)).

In zahlreichen Interferenzversuchen wurde das Verhalten zwischen inaktiviertem interferierendem und "challenge"-Virus geprüft, wobei das interferierende Virus zeitlich nachfolgte. Haben die Allantoiszellen aktives Virus aufgenommen, so erfolgt auf die zusätzliche Gabe homologen bestrahlten Virus keine Virusfreisetzung aus den infizierten Zellen (HENLE, 1949 (b), 1953 (a); HENLE und HENLE, 1949; HENLE, HENLE und ROSENBERG, 1947; ZIEGLER, LAVIN und HORSFALL, 1944; LIU, PAUCKER und HENLE, 1956).

In den Allantoiszellen ist die Virusneubildung verzögert und quantitativ vermindert, wie aus Membrantitrationen zu ersehen ist. Die Freisetzung neu gebildeter Virusteilchen wird von vornherein nicht durch das homologe interferierende Virus verhindert, sondern hängt vielmehr von dem Anfangsbetrag an aktivem Virus ab. Je niedriger die Konzentration, desto ausgesprochener tritt die Hemmung in Erscheinung (HENLE, 1949 (b); HENLE und HENLE, 1949).

Das homologe interferierende Virus scheint in den Entwicklungsvorgang des "challenge"-Virus derart einzugreifen, dass es die Bildung nichtinfektiöser Teilchen verhindert. Die Umgestaltung dieser Elemente in infektiöse Viren kann durch das homologe interferierende Virus nicht beeinflusst werden. Die Ursache dieses Phänomens liegt darin, dass homologes, inaktiviertes interferierendes Virus in hohen Konzentrationen den Entwicklungszyklus, der durch das "challenge"-Virus eingeleitet wurde, unterbricht. Jedoch muss die Einimpfung des interferierenden Virus etwa 1 Std. nach der des aktiven erfolgen (HENLE, 1949 (b), 1953 (a); HENLE, HENLE und ROSENBERG, 1947). Bei längerem Zeitintervall fällt der Hemmungseffekt fort (HENLE, 1949 (b), 1950; HENLE, HENLE und ROSENBERG, 1947; DULBECCO, 1955).

Das Eingreifen des interferierenden Virus in den bereits ablaufenden Vermehrungszyklus äussert sich darin, dass die Zellen kein neu gebildetes Virus in die Allantoisflüssigkeit abgeben. Grössere Zeitabstände zwischen beiden Injektionen haben nur unvollkommene Unterbrechung des Zyklus zur Folge (HENLE, 1953 (a)).

Während die Virusbildung in den Allantoiszellen durch homologes inaktiviertes Virus, das nach dem aktiven "challenge"-Virus den Zellen angeboten wird, stark unterdrückt wird, ist im Falle der heterologen interferierenden Virusteilchen diese Hemmung weniger deutlich (HENLE, 1949 (b); HENLE und HENLE, 1949).

Unter geeigneten Versuchsbedingungen lassen sich für das betreffende Virus sogar typische Vermehrungskurven aufstellen. Heterologes bestrahltes Virus verhindert entweder die weitere Adsorption von neu gebildetem Virus, das aus den durch das "challenge"-Virus infizierten Allantoiszellen freigesetzt wurde (HENLE, 1949 (b); HENLE und ROSENBERG, 1949; HENLE, HENLE und ROSENBERG, 1947), oder es verringert die Virusproduktion innerhalb der Zelle (HENLE, 1953 (a)).

Nach den dargelegten Interferenzerscheinungen zwischen aktiven und inaktivierten Viren erhebt sich die Frage, welche Umstände das inaktivierte Virus dazu befähigen, in die Entwicklung des aktiven Virus einzugreifen. Wie kann man sich diesen Interferenzvorgang erklären?

Die Allantoiszellen nehmen das inaktivierte Virus in grosser Zahl auf (ISAACS und EDNEY, 1950 (c)). Erst wenn das inaktivierte Virus in die Zellen der Chorioallantoismembran eingedrungen ist, wird die Interferenz eingeleitet; allein die Gegenwart des Virus in der Allantoishöhle genügt nicht dazu (HENLE, 1950; HENLE und HENLE, 1945 (a); HENLE, HENLE und KIRBER, 1947).

Die Inaktivierung der Viren durch UV-Bestrahlung beeinflusst nicht ihre Fähigkeit, an der Oberfläche der Allantoiszellen gelegene Rezeptoren zu zerstören (LIU, PAUCKER und HENLE, 1956). Nach LIU, PAUCKER und HENLE (1956), ROOYEN und RHODIES (1948) sowie LENNETTE (1951) ist wahrscheinlich die Blockade dieser Rezeptoren für das Zustandekommen der Interferenz verantwortlich. Der zur Interferenz notwendige Virusbetrag ist jedoch geringer als die Virusadsorptionsfähigkeit der Allantoiszellen (ISAACS und EDNEY, 1950 (b); HENLE, HENLE und KIRBER, 1947). PAUCKER und HENLE (1958) sind der Auffassung, dass der Fähigkeit des Virus, mit Hilfe eines Enzymes den Zellrezeptor zu zerstören, keine für die Interferenzentwicklung grundlegende Bedeutung beigemessen werden kann. Das lebende Gewebe kann die Rezeptorsubstanz in verhältnismässig kurzer Zeit wieder aufbauen (HENLE, 1950).

Somit lässt sich der Interferenzvorgang durch die Blockade von Zelloberflächenrezeptoren allein nicht erklären (HENLE, 1950, 1953 (b); PAUCKER und HENLE, 1958; ISAACS und LINDENMANN, 1957).

Eine bedeutende Rolle scheint vielmehr die Ribonukleinsäure des Virus zu spielen (PAUCKER und HENLE, 1958).

Andererseits konzentriert sich das Problem der Interferenz auf das Enzymsystem innerhalb der Allantoiszelle (HENLE, 1950; SINKOVICS, 1956; BURNET, 1955; GINSBERG und HORSFALL, 1949; HIRST, 1942).

Nach der von HENLE (1950) vertretenen Schlüssel-Enzym-Hypothese bewerben sich die interferierenden Viren innerhalb der Zelle um ein Enzymsystem, das für die Vermehrung eines von ihnen erforderlich ist. HENLE nimmt an, dass dazu mehrere Enzyme benötigt werden. Inaktiviertes Virus könnte das Enzymsystem blockieren. Damit liesse sich erklären, dass die Virusentwicklung in verschiedenen Stadien unterbrochen werden kann.

Somit würde das Interferenzphänomen darin seinen Ausdruck finden, dass sich Viren mit Anspruch auf identische Bestandteile innerhalb derselben Zelle nicht zugleich vermehren können (SINKOVICS, 1956; LENNETTE, 1951); es steht also mit dem Zellstoffwechsel der Wirtszellen und dessen Beeinflussung durch die Viren in enger Verbindung. Ob die Substanz, welche das interferierende und "challenge"-Virus für ihre Synthese benötigen, ein Enzym ist, ein Stoffwechselprodukt oder ein anderer Zellbestandteil, ist noch ungeklärt. Sicherlich soll jedoch der Interferenzvorgang mit Veränderungen innerhalb der Wirtszelle einhergehen (SCHÄFER, 1958).

Die Auffassung von der Blockade des Zellrezeptors durch das bestrahlte Virus als Voraussetzung für den Interferenzvorgang findet sich meist im älteren Schrifttum. Dieser Auffassung würde die Tatsache widersprechen, dass eine von einem inaktivierten Virusteilchen besetzte Zelle zusätzlich voll aktives Virus aufnehmen kann (HENLE, HENLE u. KIRBER, 1947), gleichgültig ob es sich um homologes oder heterologes Virus handelt.

Ebenso sprechen sich GINSBERG u. HORSFALL (1949) gegen die Blokkade von Zellrezeptoren als Voraussetzung für die Interferenz aus. Wiesen sie doch nach, dass die Allantoismembran, welche Virus adsorbiert hat, zusätzlich unvermindert heterologes Virus aufnehmen kann, auch wenn in den Allantoiszellen die Vermehrung des heterologen Virus unterbleibt.

Entsprechende Angaben finden sich bei ISAACS und EDNEY (1950 (b)) für inaktiviertes und aktives homologes Virus. Da die Allantoiszelle in der Lage ist, weit mehr an inaktivierten Virusteilchen aufzunehmen als für die Interferenz unbedingt erforderlich wäre, sind auch diese Autoren der Ansicht, dass sich das Phänomen der Interferenz innerhalb der Zelle abspielt. Die Vermehrungshemmung des "challenge"-Virus lässt sich nicht damit erklären, das aktive Virus sei am Eindringen in die Allantoiszelle gehindert worden. Inwieweit das in die Allantoiszelle aufgenommene inaktive Virus direkt die Zelle schädigt, ist unbekannt (HENLE, 1950; HENLE und HENLE, 1945 (a); ISAACS und EDNEY, 1950 (a)).

Wahrscheinlich ist die interferierende Fähigkeit an besondere Gruppen innerhalb des Virusteilchens gebunden, welche sich von denjenigen unterscheiden, die für andere Viruseigenschaften verantwortlich sind (HENLE, 1950). FRISCH - NIGGEMEYER (1959) grenzt innerhalb eines interessanten Virus-Modelles eine solch eigenständige interferierende Substanz ab.

Einige Interferenzgeschehen lassen sich durch das zuerst von ISAACS und LINDENMANN beschriebene Interferon erklären (ISAACS u. LINDENMANN, 1957; ISAACS, LINDENMANN u. VALENTINE, 1957, HENLE, u. a., 1959; LINDENMANN, BURKE u. ISAACS, 1957).

Das Interferon tritt unter anderem in Chorioallantoismembranen auf, die mit inaktiviertem Virus behandelt worden sind. Dabei ist es gleichgültig, ob das Virus mit Hitze oder UV-Strahlen vorbehandelt wurde. Die Freisetzung des Interferons geht mit einer gleichzeitigen Interferenzentwicklung einher und hängt von der Menge des inaktivierten Virus und dessen Interferenzfähigkeit ab.

Werden "challenge"-Virus und Interferon gemeinsam gegeben, tritt keine Interferenz auf. Zur vollständigen Interferenzentwicklung ist ein Intervall von 24 Std. zwischen der Gabe beider Substanzen notwendig.

Damit haben wir im Interferon einen weiteren Faktor für eine besondere Art der Interferenz.

LITERATUR

Andrewes, C.H.: Interference by one Virus with the Growth of Another in Tissue-Culture. - Brit. J. exp. Path. 23, 214-220 (1942)

Antoniadis, E.I.: Photometrische Bestimmung der Konzentration von Hämagglutinin in Virus-Suspensionen. - Zbl. Bakt., I. Abt. Orig. 188, 408-422 (1963)

Bernkopf, H.: Cultivation of Influenza Virus in the Chorio-Allantoic Membrane of Deembryonated Eggs.- Proc.Soc.exp.Biol.72, 680 - 682 (1949)

Bernkopf, H.: Study of Infectivity and Hemagglutination of Influenza Virus in Deembryonated Eggs.- J.Immunol.65, 571 - 583 (1950)

Bieling, R.: Viruskrankheiten. I.Teil: Die Viruskrankheiten des Menschen. J.A. Barth-Verlag, Leipzig. 4.Auflage, 1954, S.1-19, 30 ff., 104 ff.

Burke, D.C., and Isaacs, A.: Further Studies on Interferon.- Brit.J.exp. Path. Vol.39, No.1, 78 - 84 (1958)

Burnet, F.M.: Interference between Viruses and other Aspects of Intracellular Replication.- Principles of Animal Virology, Academic Press, New York, 1955, Chapter VIII, pp.177 - 202

Burnet, F.M., and Lind, P.E.: Influenza Virus Recombination: Experiments Using the Deembryonated Egg Technique.- Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology. Vol.18, 21 - 24 (1953)

Burnet, F.M., and Lind, P.E.: Recombination of Influenza Viruses in the Deembryonated Egg. 2.The Conditions for Recombination and the Evidence for the Possible Existence of Diploid Influenza Virus.- Austr. J.exp.Biol.Med.Sci.32, 153 - 163 (1954)

Burnet, F.M., Lind, P.E., and Stevens, K.M.: Production of Incomplete Influenza Virus in the Deembryonated Egg.- Austr.J.exp.Biol.Med.Sci. 33, 127 - 141 (1955)

Cairns, H.J.F., and Edney, M.: Quantitative Aspects of Influenza Virus Multiplication. I.Production of "Incomplete" Virus.- J.Immunol.69, 155 - 160 (1952)

Cairns, H.J.F., and Mason, P.J.: Production of Influenza A Virus in the Cells of the Allantois.- J.Immunol.71, 38 - 40 (1953)

Dalldorf, G., and Weigand, H.: Poliomyelitis as a Complex Infection. - J.exp.Med.108, 605 - 616 (1958)

Dick, G.W.A., Dane, D.S., and Chir, B.: Vaccination against Poliomyelitis with live Virus Vaccines.- Brit.med.J.II, 1184 - 1186 (1958)

Drescher, J.: Über Hämagglutinin- und Antikörpergehaltsbestimmungen. I.Mitteilung: Beschreibung eines photometrischen Verfahrens zur Virusgehaltsbestimmung.- Zbl.Bakt., I.Abt.Orig.169, 314-348 (1957)

Drescher, J.: Über Hämagglutinin- und Antikörpergehaltsbestimmungen. III. Mitteilung: Über die photometrische Bestimmung von Hämagglutinin und spezifisch hemmenden Antikörpern bei Mumpsvirus. Zbl. Bakt., I. Abt. Orig. 172, 11 - 28 (1958)

Drescher, J.: Adsorptionsphänomene als Mittel zur Differenzierung von Virusarten. - Zbl. Bakt., I. Abt. Orig. 176, 295 - 301 (1959)

Drescher, J., Hennessy, A.V., and Davenport, F.M.: Photometric Methods for the Measurement of Hemagglutinating Viruses and Antibody. I. Further Experience with Novel Photometric Method for Measuring Hemagglutinins. - J. Immunol. 89, No. 6, 794 - 804 (1962)

Drescher, J., Davenport, F.M., and Hennessy, A.V.: Photometric Methods for the Measurement of Hemagglutinating Viruses and Antibody. II. Further Experience with Antibody Determinations and the Description of a Technique for Analysis of Virus Mixtures. - J. Immunol. 89, No. 6, 805 to 814 (1962)

Dulbecco, R.: Interaction of Viruses and Animal Cells. A Study of Facts and Interpretations. - Physiol. Rev. 35, 301 - 335 (1955)

Enders, J.F.: Propagation of Viruses and Rickettsiae in Tissue Cultures, in: Rivers, T.M.: Viral and Rickettsial Infections of Man. J.B. Lippincott Company, Philadelphia - London - Montreal - Second Edition 126 - 140 (1952)

Fazekas de St. Groth, S., and Cairns, H.J.F.: Quantitative Aspects of Influenza Virus Multiplication. IV. Definition of Constants and General Discussion. - J. Immunol. 69, 173 - 181 (1952)

Fazekas de St. Groth, S., and Edney, M.: Quantitative Aspects of Influenza Virus Multiplication. II. Heterologous Interference. - J. Immunol. 69, 160 - 168 (1952)

Fazekas de St. Groth, S., and Graham, D.M.: The Production of Incomplete Virus Particles among Influenza Strains Experiments in Eggs. Brit. J. exp. Path. Vol. 35, No. 1, 60 - 74 (1954)

Fazekas de St. Groth, S., Isaacs, A., and Edney, M.: Multiplication of Influenza Virus under Conditions of Interference. - Nature 170, 573 (1952)

Finter, N.B., Liu, O.C., Lieberman, M., and Henle, W.: Studies on Host-Virus Interactions in the Chick Embryo-Influenza Virus System. VIII. An Experimental Analysis of Various Deembryonation Technics. J. exp. Med. 100, 33 - 52 (1954)

Freymann, M.W., Tamm, I., and Green, R.H.: Growth Curves of Influenza Virus Based on Hemagglutination Titres in Individual Embryonated Eggs. Yale J. Biol. Med. 23, 269-276 (1950/51)

Frisch-Niggemeyer, W.: The Internal Structure of Influenza Virus. Z. Naturforsch. 14 b, 168 - 171 (1959)

Fulton, F., and Isaacs, A.: Influenza Virus Multiplication in the Chick Chorioallantois Membrane. - J. gen. Microbiol. 9, 119-131 (1953)

Ginsberg, H.S., and Horsfall, F.L.: Concurrent Infection with Influenza Virus and Mumps Virus or Pneumonia Virus of Mice (PVM) as Bearing on the Inhibition of Virus Multiplication by Bacterial Polysaccharides. J. exp. Med. 89, 37 - 52 (1949)

Grossgebauer, K.: Die Laboratoriumsdiagnose der Influenza (Virusgrippe). Materia Medica Nordmark XIV/4, 142 - 154 (1962)

Groupé, V., and Pugh, L.H.: Auto-Interference Associated with Influenza Virus. - Proc. Soc. exp. Biol. 75, 492 - 496 (1950)

Hale, J.H., Doraisingham, M., Kanagaratnam, K., Leong, K.M., and Monteiro, E.S.: Large-Scale Use of Sabin Type 2 Attenuated Poliovirus Vaccine in Singapore during a Type 1 Poliomyelitis Epidemic. Brit. med. J. I, 1541 - 1548 (1959)

Henle, W.: Studies on Host-Virus Interactions in the Chick Embryo-Influenza Virus System. I. Adsorption and Recovery of Seed Virus. J. exp. Med. 90, 1 - 11 (1949 (a))

Henle, W.: Studies on Host-Virus Interactions in the Chick Embryo-Influenza Virus System. II. The Propagation of Virus in Conjunction with the Host Cells. - J. exp. Med. 90, 13 - 22 (1949 (b))

Henle, W.: Interference Phenomena between Animal Viruses. A Review. - J. Immunol. 64, 203 - 236 (1950)

Henle, W.: Developmental Cycles in Animal Viruses. - Cold Spring Harbor, Symposia on Quantitative Biology. Vol. XVIII/Viruses, 35-44 (1953 (a))

Henle, W.: Multiplication of Influenza Virus in the Entodermal Cells of the Allantois of the Chick Embryo. - Adv. Virus Res. I, 141-227 (1953 (b))

Henle, W., and Henle, G.: Interference between Inactive and Active Viruses of Influenza. I. The Incidental Occurrence and Artificial Induction of the Phenomenon. - Amer. J. Med. Sci. 207, 705 - 717 (1944 (a))

Henle, W., and Henle, G.: Interference between Inactive and Active Viruses of Influenza. II. Factors Influenzing the Phenomenon. - Amer. J. Med. Sci. 207, 717 - 733 (1944 (b))

Henle, W., and Henle, G.: Interference between Inactive and Active Viruses of Influenza. III. Cross-Interference between Various Related and Unrelated Viruses. - Amer. J. Med. Sci. 210, 362 - 369 (1945)

Henle, G., and Henle, W.: Interference between Inactive and Active Viruses of Influenza. IV. The Nature of the Interfering Agent. - Amer. J. Med. Sci. 210, 369 - 374 (1945)

Henle, W., and Henle, G.: The Effect of Ultraviolet Irradiation on Various Properties of Influenza Viruses. - J. exp. Med. 85, 347 - 364 (1947)

Henle, W., and Henle, G.: Studies on Host-Virus Interactions in the Chick Embryo-Influenza Virus System. III. Development of Infectivity, Hemagglutination, and Complement Fixation Activities during the first Infectious Cycle. - J. exp. Med. 90, 23 - 37 (1949)

Henle, W., Henle, G., Deinhardt, F., and Bergs, V.V.: Studies on Persistent Infections of Tissue Cultures. IV. Evidence for the Production of an Interferon in MCN Cells by Myxoviruses. - J. exp. Med. 110, 525 - 541 (1959)

Henle, W., Henle, G., and Kirber, M. W.: Interference between Inactive and Active Viruses of Influenza. V. Effect of Irradiated Virus on the Host Cells. - Amer. J. Med. Sci. 214, 529 - 541 (1947)

Henle, W., Henle, G., and Rosenberg, E. B.: The Demonstration of One-Step Growth Curves of Influenza Viruses through the Blocking Effect of Irradiated Virus on further Infection. - J. exp. Med. 86, 423 - 437 (1947)

Henle, W., and Liu, O. C.: Studies on Host-Virus Interactions in the Chick Embryo-Influenza Virus System. VI. Evidence for Multiplicity Reactivation of Inactivated Virus. - J. exp. Med. 94, 305 - 322 (1951)

Henle, W., and Paucker, K.: Interference between Inactivated and Active Influenza Viruses in the Chick Embryo. I. A Re-Evaluation of Factors of Dosage and Timing Using Infectivity Titrations for Assay. - Virology 6, 181 - 197 (1958)

Henle, W., and Rosenberg, E. B.: One-Step Growth Curves of Various Strains of Influenza A and B Virus and their Inhibition by Inactivated Virus of the Homologous Type. - J. exp. Med. 89, 279 - 285 (1949)

Hennessen, W.: Die Prophylaxe der Poliomyelitis durch tote und lebende Impfstoffe. - Behringwerk-Mitteilungen. Literaturberichte zur Poliomyelitis-Schutzimpfung aus den Jahren 1956 bis 1958. Heft 36, S. 22-33

Hirst, G. K.: Adsorption of Influenza Hemagglutinins and Virus by Red Blood Cells. - J. exp. Med. 76, 195 - 209 (1942)

Horsfall, F. L.: Influenza, in: Rivers, T. M.: Viral and Rickettsial Infections of Man. - J. B. Lippincott Company, Philadelphia - London - Montreal, Second Edition, 392 - 413 (1952)

Horsfall, F. L.: Reproduction of Influenza Viruses. Quantitative Investigations with Particle Enumeration Procedures on the Dynamics of Influenza A and B Virus Reproduction. - J. exp. Med. 102, 441 - 473 (1955)

Hoskins, M.: A Protective Action of Neurotropic against Viscerotropic Yellow Fever Virus in Macacus Rhesus. - Amer. J. trop. Med. 15, 675 - 680 (1935)

Hoyle, L.: The Growth Cycle of Influenza A Virus. A Study of the Relation between Viruses, Soluble Antigen, and Host Cell in the Fertile Eggs Inoculated with Influenza Virus. - Brit. J. exp. Path. Vol. 29, No. 5, 390 - 399 (1948)

Hoyle, L.: The Multiplication of Influenza Viruses in the Fertile Egg. - J. Hyg. 48, 277 - 297 (1950)

Isaacs, A., and Edney, M.: Interference between Inactive and Active Influenza Viruses in the Chick Embryo. 1. Quantitative Aspects of Interference. - Aust. J. exp. Biol. 28, 219 - 230 (1950 (a))

Isaacs, A., and Edney, M.: Interference between Inactive and Active Influenza Viruses in the Chick Embryo. 2. The Site of Interference. – Aust. J. exp. Biol. 28, 231 - 238 (1950 (b))

Isaacs, A., and Edney, M.: Interference between Inactive and Active Influenza Viruses in the Chick Embryo. 4. The Early Stages of Virus Multiplication and Interference. - Aust. J. exp. Biol. 28, 635 - 645 (1950 (c))

Isaacs, A., and Edney, M.: Interference between Inactive and Active Influenza Viruses in the Chick Embryo. 5. The Behaviour of Different Strains of Challenge Virus. - Aust. J. exp. Biol. 29, 169 - 178 (1951 (a))

Isaacs, A., and Edney, M.: Interference between Inactive and Active Influenza Viruses in the Chick Embryo. 6. The Behaviour of Different Strains of Interfering Virus. - Aust. J. exp. Biol. 29, 179 - 186 (1951 (b))

Isaacs, A., and Fulton, F.: Interference in the Chick Chorion. - J. gen. Microbiol. 9, 132 - 139 (1953)

Isaacs, A., and Lindenmann, J.: Virus Interference. I. The Interferon. - Proc. roy. Soc. (London) Ser. B, 147, 258 - 267 (1957)

Isaacs, A. Lindenmann, J., and Valentine, R.C.: Virus Interference. II. Some Properties on Interferon. - Proc. roy. Soc. (London) Ser.B, 147, 268-273 (1957)

Keller, W. und Vivell, O.: Die Poliomyelitis-Schutzimpfung mit vermehrungsfähigen abgeschwächten Viren (aus der Universitätskinderklinik Freiburg im Breisgau). - Dtsch. med. Wschr. 84. Jahrgang, 2. Halbjahr 1959, Heft 27 - 52, Nummer 45, Seite 1993 - 1998

Klöne, W.: Laboratoriumsdiagnose menschlicher Virus- und Rickettsien-Infektionen. Springer Verlag, Berlin - Göttingen - Heidelberg, 1953 - Seiten 10 - 89, 37 - 42 und 119 - 128

Koprowski, H.: Immunisierung gegen Poliomyelitis mit abgeschwächten Präparationen lebenden Virus. - Ann. New York Acad. Sci. 61, 1039-1049 (1955 (a)) - zitiert nach: Ref. Kongressbl. inn. Med. 170, 8 (1956)

Koprowski, H.: Living Attenuated Poliomyelitis Virus as an Immunizing Agent of Man. - South African Med. J. 29, 1134 - 1142 (1955 (b)) - zitiert nach: Ref. Bull. Hyg. 31, 500 (1956) - Polio-Sonderdruck Nr. 82

Koprowski, H., Norton, T. W., Jervis, G. A., Nelson, T. L., Chadwick, D. L., Nelsen, D. J., and Meyer, K. F.: Clinical Investigations on Attenuated Strains of Poliomyelitis Virus. Use as a Method of Immunization of Children with Living Virus. - J. Amer. med. Ass. 11, 954-966 (1956) - zitiert nach: Beale, A. J.: Bull. Hyg. 31, No. 8, 801 - 802 (1956)

Koprowski, H., Norton, T. W., Jervis, G. A., Stokes jr., J., McGee, E. L., and Nelsen, D. J.: Immunization of Children by the Feeding of Living Attenuated Type 1 and Type 2 Poliomyelitis Virus and the Intramuscular Injection of Immune Serum Globulin. - Amer. J. med. Sci. 4, 378-388 (1956) - zitiert nach: Clarke, M.: Bull. Hyg. 32, No. 5, 512 (1957)

Lennette, E. H.: Interference between Animal Viruses. - Ann. Rev. microbiol. 5, 277 - 294 (1951)

Leuthardt, F.: Lehrbuch der Physiologischen Chemie. III. Teil: Der Stoffwechsel (Die Fermente). - Walter de Gruyter and Co., Berlin 1957, 173 ff.

Lindenmann, J., Burke, D. C., and Isaacs, A.: Studies on the Production, Mode of Action, and Properties of Interferon. - Brit. J. exp. Path., Vol. 38, No. 5, 551 - 562 (1957)

Liu, O.C., Paucker, K., and Henle, W.: Studies on Host-Virus Interactions in the Chick Embryo-Influenza Virus System. XIII. Some Aspects of Non-Infectious Virus Production. - J. exp. Med. 103, 777-797 (1956)

von Magnus, P.: Studies on Interference in Experimental Influenza. I. Biological Observations. - Arkiv för Kemi, Mineralogi och Geologi 24 B, No. 7, 1 - 6 (1947)

von Magnus, P.: Propagation of the PR 8 Strain of Influenza A Virus in Chick Embryos. I. The Influence of Various Experimental Conditions on Virus Multiplication. - Acta path. microbiol. scand. 28, 250-277 (1951 (a))

von Magnus, P.: Propagation of the PR 8 Strain of Influenza A Virus in Chick Embryos. II. The Formation of "Incomplete" Virus Following Inoculation of Large Doses of Seed Virus. - Acta path. microbiol. scand. 28, 278 - 293 (1951 (b))

von Magnus, P.: Propagation of the PR 8 Strain of Influenza A Virus in Chick Embryos. III. Properties of the Incomplete Virus Produced in Serial Passages of Undiluted Virus. - Acta path. microbiol. scand. 29, 157 - 181 (1951 (c))

von Magnus, P.: Propagation of the PR 8 Strain of Influenza A Virus in Chick Embryos. IV. Studies on the Factors Involved in the Formation of Incomplete Virus upon Serial Passage of Undiluted Virus. - Acta path. microbiol. scand. 30, 311 - 335 (1952)

von Magnus, P.: Incomplete Forms of Influenza Virus. - Adv. Virus Res., Vol. II, 59 - 79 (1954)

McKinney, H.H.: Mosaic Diseases in the Canary Islands, West Africa, and Gibraltar. - J. Agric. Res. 39, 557 - 578 (1929)

McLean, J.W., Beard, D., Taylor, A.R., Sharp, D.G., and Beard, J.W.: The Relation of Antibody Response in Swine to Dose of the Swine Influenza Virus Inactivated with Formalin and with Ultraviolet Light. - J. Immunol. 51, 65 - 99 (1945)

Müller, R.: Medizinische Mikrobiologie, 3. Auflage, Urban und Schwarzenberg, Berlin - München - Wien, 1946, 308

Paucker, K., and Henle, W.: Interference between Inactivated and Active Influenza Viruses in the Chick Embryo. II. Interference by Incomplete Forms of Influenza Virus. - Virology 6, 198 - 214 (1958)

Reed, C.J., and Muench, H.: Simple Method for the Estimation of Fifty per Cent End Points.- Amer.J.Hyg. 27, 493 (1938)

van Rooyen, C.E., and Rhodies, A.J.: Virus Diseases of Man, New York, 616 - 626 (1948)

Rotem, Z.: Virus-Interferenz und Interferon.- Die Therapie des Monats 13, 54 - 61 (1963)

Sabin, A.B.: Present Status of Attenuated Live-Virus Poliomyelitis Vaccine.- J.Amer.med.Ass.18, 1589 - 1596 (1956) - zitiert nach: Beale, A.J.: Bull.Hyg.32, No.5, 511 - 512 (1957)

Sabin, A.B.: Properties and Behaviour of Orally Administered Attenuated Poliovirus Vaccine.- J.Amer.med.Ass.164, 1216 - 1223 (1957) - zitiert nach: Ref.Bull.Hyg.32, 1032 (1957)

Salk, J.E.: A Simplified Procedure for Titrating Hemagglutinating Capacity of Influenza Virus and the Corresponding Antibody.- J.Immunol. 49, 87 - 98 (1944)

Salk, J.E., Lavin, G.I., and Francis, T.: The Antigenic Potency of Epidemic Influenza Virus Following Inactivation by Ultraviolet Radiation. J.exp.Med.72, 729 - 745 (1940)

Schäfer, W.: Übersicht: Interferenz und Interferon.- Dtsch.med.Wschr. 83.Jahrgang, 2.Halbjahr 1958, Heft 27 - 52, Nummer 41, S.1825-1826

Schlesinger, R.W.: Interference between Animal Viruses, in: Rivers, T.M.: Viral and Rickettsial Infections of Man, Second Edition, J.B.Lippincott Company, Philadelphia - London - Montreal, 1952, S.161 - 171

Schlesinger, R.W.: Interference between Animal Viruses, in: Burnet, F.M., and Stanley, W.M.: The Viruses, Vol.3, Animal Viruses, Chapter VII, 1959, S.157 - 194

Sinkovics, J.: Die Grundlagen der Virusforschung 1956, Verlag der Ungarischen Akademie der Wissenschaften, S.58-60, 72-75, 75-95, 95-97, 235-247

Sprössig, M.: Austestung virusinaktivierender Eigenschaften von Desinfektionsmitteln im exembryonierten Brutei.- Arch.Hyg.142, 425-440 (1958)

Stone, J.D.: Prevention of Virus Infection with Enzyme of V.Cholerae. I.Studies with Viruses of Mumps-Influenza Group in Chick Embryo. Aust.J.exp.Biol.26, 49 - 64 (1948)

Svedmyr, A.: Studies on a Factor in Normal Allantoic Fluid Inhibiting Influenza Virus Hemagglutination.- Arkiv för Kemi, Mineralogi och Geologi 24 B, No.11, 1 - 8 (1947)

Svedmyr, A.: Studies on a Factor in Normal Allantoic Fluid Inhibiting Influenza Virus Hemagglutination. Occurrence, Physico-Chemical Properties, and Mode of Action. - Brit.J.exp.Path.29, No.4, 295 - 308 (1948 (a))

Svedmyr, A.: Studies on a Factor in Normal Allantoic Fluid Inhibiting Influenza Virus Hemagglutination. Virus-Inhibitor Interaction.- Brit.J.exp.Path.29, No.4, 309 - 321 (1948(b))

Ühlein, E.: Wesen und Wirkung der Viren (1.Teil).- Materia Medica Nordmark VIII/9, 334 - 337 (1956)

Ühlein, E.: Wesen und Wirkung der Viren (Schluss).- Materia Medica Nordmark VIII/10, 392 - 397 (1956)

Verlinde, J.D., Wilterdink, J.B., and Kret, A.: Active Immunization against Poliomyelitis with Live Attenuated Viruses.- Arch.ges.Virusforsch.8, 549 - 564 (1958)

Vivell, O.: Über Interferenzerscheinungen bei Infektionskrankheiten. - Ergebnisse der Inneren Medizin und Kinderheilkunde. - Neue Folge, 2.Band, 680 - 712 (1951)

Weigand, H.: Über die Interferenzerscheinungen bei den Entero-Viren.- Materia Medica Nordmarck XIV/4, 129 - 141 (1962)

Wildführ, G.: Medizinische Mikrobiologie, Immunologie und Epidemiologie. I.Teil. - VEB Georg Thieme, Leipzig, 232 - 233 (1961(a))

Wildführ, G.: Medizinische Mikrobiologie, Immunologie und Epidemiologie. II.Teil. - VEB Georg Thieme, Leipzig, 725-740, 800-812 (1961(b))

Ziegler, J.E., and Horsfall, F.L.: Interference between the Influenza Viruses. I.The Effect of Active Virus upon the Multiplication of Influenza Viruses in the Chick Embryo.- J.exp.Med.79, 361-377 (1944)

Ziegler, J.E., Lavin, G.I., and Horsfall, F.L.: Interference between the Influenza Viruses. II. The Effect of Virus Rendered Non-Infective by Ultraviolet Radiation upon the Multiplication of Influenza Viruses in the Chick Embryo. - J. exp. Med. 79, 379 - 400 (1944)

Ziegler, J.E., Lavin, G.I., and Horsfall, F.L.: Zur Impfung mit lebendem Poliovirus. - Bundesgesundheitsblatt 2, 333 (1959(a))

Ziegler, J.E., Lavin, G.I., and Horsfall, F.L.: Live Poliomyelitis Vaccine. Brit. med. J.I, 700 - 701 (1959(b))

Waltrun Sinz

1 Berlin 37
Goethestr. 32

Nachtrag:

Drescher, J., Davenport, F.M., Hennessy, A.V.: J. Immunol. 89, 805 (1962)

Drescher, J., Hennessy, A.V., Davenport, F.M.: J. Immunol. 89, 794 (1962)

Lebenslauf

Als Tochter des leitenden Arztes der chirurgischen Abteilung am Krankenhaus „Waldfriede" in Berlin-Zehlendorf, Dr. Paul Sinz, und seiner Ehefrau Hedwig Sinz, geb. Friedrich, wurde ich, Waltrun Sinz, am 15. Juli 1937 in Berlin-Zehlendorf geboren.

Am 3. März 1956 legte ich an der Gertraudenschule in Berlin-Dahlem die Reifeprüfung ab und begann am 1. Mai mit dem Medizinstudium an der Freien Universität Berlin. Am 31. Oktober 1958 bestand ich die ärztliche Vorprüfung und am 5. November 1962 die ärztliche Prüfung. Seit 1. März 1963 leiste ich die Medizinalassistentenzeit am Krankenhaus Hubertus in Berlin-Schlachtensee ab. Sie umfaßt 10 Monate Innere Medizin und 6 Monate Chirurgie. Augenblicklich bin ich auf der geburtshilflich-gynäkologischen Abteilung am gleichen Krankenhaus tätig.

Sonderdruck aus „Zentralblatt für Bakteriologie I. Abteilung" Referate Band 199 und Originale Band 197 (1965).